

SÉRIE A, N° 1141

N° D'ORDRE

1999

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR
ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

HOPE HIBBARD

FELLOW OF INTERNATIONAL EDUCATION BOARD

1^{re} THÈSE : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE
L'OVOGENÈSE, DE LA FÉCONDATION
ET DE L'HISTOGENÈSE CHEZ
DISCOGLOSSUS PICTUS OTTH.

2^{me} THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA
FACULTÉ.

Soutenues le 14 juin 1928, devant la Commission d'Examen

Président : M. P. WINTREBERT

Examineurs { MM. A. GUILLIERMOND
A. DEREIMS



LIÈGE
IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE
4, PLACE SAINT-MICHEL, 4

—
1928

SÉRIE A, N° 1141

N° D'ORDRE

1999

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR
ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

HOPE HIBBARD

FELLOW OF INTERNATIONAL EDUCATION BOARD

- 1^{re} THÈSE : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE
L'OVOGENÈSE, DE LA FÉCONDATION
ET DE L'HISTOGENÈSE CHEZ
DISCOGLOSSUS PICTUS OTTH.
- 2^{me} THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA
FACULTÉ.

Soutenues le 14 juin 1928, devant la Commission d'Examen

Président : M. P. WINTREBERT

Examinateurs { MM. A. GUILLIERMOND
A. DEREIMS



LIÈGE

IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE

4, PLACE SAINT-MICHEL, 4

—
1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS



MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires . P. APPELL, M. MOLLIARD.

<i>Professeurs honoraires</i>	P. PUISEUX.
	V. BOUSSINESQ.
	A. JOANNIS.
	H. LE CHATELIER.
	H. LEBESGUE.
	A. FERNBACH.
<i>Professeurs</i>	A. LEDUC
	Emile PICARD ... Analyse supérieure et algèbre supér.
	G. KENIGS Mécanique physique et expériment.
	E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
	P. JANET..... Electrotechnique générale.
	F. WALLERANT ... Minéralogie
	H. ANDOYER Astronomie.
	P. PAINLEVÉ Mécan. analytique et céleste.
	Gabriel BERTRAND. Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
	M. CAULLERY Zoologie (Évol. des êtres organisés).
	G. URBAIN Chimie minérale.
	Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathématique.
	L. MARCHIS Aviation.
	Jean PERRIN Chimie physique.
	Rémy PERRIER ... Zoologie (Enseignement P. C. N.).
	H. ABRAHAM Physique]
	M. MOLLIARD Physiologie végétale.
	E. CARTAN Géométrie supérieure.
	L. LAPICQUE..... Physiologie générale.
	E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.
	A. COTTON Physique générale.
	J. DRACH Application de l'analyse à la géomét.
	Charles FABRY ... Physique.
	Charles PÉREZ ... Zoologie.
	Léon BERTRAND .. Géol. structurale et géol. appliquée.
	R. LESPIEAU Théories chimiques.
	E. RABAUD Biologie expérimentale.
	P. PORTIER Physiologie comparée.
	E. BLAISE Chimie organique.
	P.-A. DANGEARD .. Botanique.
	Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
	P. WINTREBERT .. Anatomie et histologie comparées.
	O. DUBOSQ. Biologie maritime.
	G. JULIA Mathématiques générales.
	A. JOB Chimie générale.
	A. MAILHE Etude des combustibles.
	L. LUTAUD Géogr. physique et géol. dynamique



<i>Professeurs</i>	Eugène BLOCH ...	Physique théorique et physique céleste.
	Henri VILLAT	Mécanique des fluides et applications
	Ch. JACOB	Géologie
	P. PASCAL	Chimie appliquée.
	E. HÉROUARD	Zoologie.
	E. PÉCHARD	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	V. AUGER	Chimie analytique.
	M. GUICHARD	Chimie minérale.
	A. GUILLET.....	Physique.
	C. MAUGUIN	Minéralogie.
	L. BLARINGHEM ..	Botanique.
	A. MICHEL-LÉVY ..	Pétrographie.
	A. DEREIMS	Géologie.
	R. DONGIER	Physique du globe.
	A. DENJOY	Calcul différentiel et intégral.
	H. BÉNARD	Physique (P. C. N.).
	E. DARMOIS	Physique.
	G. BRUHAT	Physique.
	H. MOUTON	Chimie physique
	L. JOLEAUD	Paléontologie.
	M. JAVILLIER	Chimie biologique.
	A. DUFOUR	Physique (P. C. N.).
	F. PICARD	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
	ROBERT-LÉVY.....	Zoologie.
	L. DUNOYER.....	Optique appliquée.
	A. GUILLIERMOND .	Botanique (P. C. N.).
	A. DEBIERNE	Radioactivité.
<i>Secrétaire...</i>	Daniel TOMBECK.	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	3
TECHNIQUE	5
LE DÉVELOPPEMENT DE L'ŒUF	9
I. Mitochondries	10
II. Les Graisses et les Lipoides	12
III. L'Appareil de Golgi	16
IV. Formation du Vitellus	18
V. Glycogène	21
VI. Acide Nucléique	22
VII. Les Membranes Extérieures	25
FÉCONDATION	31
LE DÉVELOPPEMENT DE L'EMBRYON	34
I. De la Fécondation à la Gastrula	36
II. Histogenèse	37
1. Cellules Epithéliales	37
a) Vitellus	37
b) Pigment	41
c) Mitochondries	41
d) Mucus	41
e) Vacuoles	42
f) Graisses et Lipoides	47
g) Glycogène	50
h) Résumé	50
2. Hématies	53
3. Muscles Striés	54
4. Corde Dorsale	58
5. Pancréas	59
6. Foie	61
7. Pronephros	62
8. Intestin	64
III. Résumé	66
CONCLUSIONS	68
BIBLIOGRAPHIE	70
EXPLICATION DES PLANCHES	77

**Contribution à l'étude de l'Ovogenèse,
de la Fécondation, et de l'Histogenèse chez
Discoglossus Pictus Otth.**

PAR

HOPE HIBBARD,

Fellow of International Education Board

Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées, Sorbonne)

(Avec 12 figures dans le texte et planches X et XI).

Introduction

Depuis ces dernières années le développement des méthodes histochimiques et l'application de plus en plus générale des colorations vitales ont apporté en cytologie un contingent considérable de connaissances nouvelles sur la physiologie cellulaire. Les embryologistes ont coutume de décrire l'origine et la croissance des organes et des systèmes d'organes d'un point de vue purement morphologique. Quelques uns, cependant, envisagent le problème de développement d'un point de vue physiologique et chimique, tel que BIALASZEWICZ et ses élèves, FAURÉ-FRÉMIET, NEEDHAM, etc. Parmi ceux qui ont tenté de rapprocher les méthodes morphologiques et physiologiques je citerai surtout KONO-PACKI et KONOPACKA qui se sont attachés particulièrement à suivre le métabolisme des lipoïdes et du glycogène au cours du développement de la Grenouille.

Le but de ce travail fut surtout d'appliquer des méthodes cytologiques et histologiques aussi variées que possible sur une seule espèce en voie de développement, *Discoglossus Pictus* Otth. en reliant dans l'étude de son embryogénèse, les phénomènes cytologiques aux observations d'ordre biologique.

Le choix de *Discoglossus pictus* Otth. se justifie par l'abondance de ses œufs, la facilité avec laquelle on peut élever ces animaux au laboratoire, la saison très longue de la ponte, et aussi à cause des particularités spéciales qu'offre cet animal en ce qui concerne la forme de l'œuf mûr, ses membranes, la fécondation, l'éclosion précoce, etc...

Certains faits concernant l'élaboration et l'emmagasinement du matériel nutritif dans l'œuf ont été constatés antérieurement par l'auteur. (HIBBARD 1928). On reprendra ici les faits essentiels et on ajoutera les résultats d'observations postérieures à ces travaux. Nous étudierons ensuite, les premiers changements qui se produisent dans l'embryon se développant et entraînant des transformations de ces substances nutritives, c'est-à-dire, du vitellus et des graisses. Entre ces deux processus distincts se placeront quelques observations et quelques expériences physiologiques sur le mécanisme de la fécondation.

La grosse difficulté du travail réside dans les méthodes de technique. L'histochimie est une science encore jeune si on la compare à la Chimie biologique. Pour cette raison, les résultats dont nous nous contentons aujourd'hui, paraîtront, sans doute, très insuffisants d'ici quelques années. Malgré les difficultés actuelles, il est déjà possible d'apporter quelques notions intéressantes sur le métabolisme embryonnaire à l'échelle cellulaire. Si nous n'atteignons pas l'exactitude quasi-mathématique des résultats quantitatifs des biochimistes, nous gagnons par contre en précision morphologique et topographique. Nous pouvons parler de localisation de substances, non seulement dans les tissus mais dans les cellules, et cette précision de lieu nous semble fort importante ; car, pour comprendre la vie de la cellule il y a une nécessité fondamentale à connaître à la fois, non seulement les constituants cellulaires, mais encore les relations spatiales entre ces constituants et les diverses substances qui occupent le cytoplasme.

Une telle étude cytologique du développement normal, conduite dans le sens histochimique, serait, à notre avis,

très utile pour compléter les beaux travaux effectués du point de vue expérimental par BRACHET, SPEMANN, LILLIE, CHILD, et leurs élèves ; elle permettrait, peut-être, de localiser dans les cellules mêmes des centres organisateurs, les facteurs de l'activité embryonnaire.

D'ailleurs, dans notre esprit, le travail que nous présentons aujourd'hui n'est essentiellement qu'un essai dans la voie du « micrométabolisme » selon le terme excellent de KONOPACKI et de KONOPACKA. Il ne doit être qu'une première étape destinée à servir ultérieurement de base à une étude du métabolisme et de l'énergétique embryonnaires du Discoglosse, pratiquée à l'aide des techniques chimiques et physiologiques modernes.

Nous tenons à remercier ici M. le Professeur Paul WINTREBERT de son bienveillant accueil dans son laboratoire et des précieux conseils qu'il nous a prodigués, nous avons profité largement des observations biologiques personnelles qu'il a mises à notre disposition.

Nous remercions également le Docteur Maurice PARAT qui a consenti à s'occuper particulièrement de ces recherches. Nous lui apportons ici l'expression de notre reconnaissance la plus sincère pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail, et pour ses excellents conseils.

A M. Maurice ROSE qui nous a envoyé d'Alger des animaux vivants, à M. Paul TCHERNIAKOFISKY qui a bien voulu lire le premier manuscrit, et à Mlle Paule WACHI qui a fait si soigneusement les dessins, nous adressons nos remerciements.

Méthodes et technique

La première méthode, celle qui nous a donné les résultats les plus féconds, fut l'examen des ovaires ou des embryons vivants à l'aide de la *coloration vitale au rouge neutre*. Ce procédé est d'application très simple pour les embryons. Un peu d'eau dans laquelle vivent les animaux est placée dans un verre de montre, quelques cristaux de rouge neutre

(Krall, Microcolor) y sont dissous et on y met les animaux quelques heures avant de les reprendre pour l'examen. Dans le cas de têtards assez avancés pour remuer ils se comportent comme dans de l'eau ordinaire. Il n'y eut ni élévation ni abaissement de l'activité. On a pris soin d'éviter aussi bien l'obscurité complète que l'action de la lumière solaire sur les animaux colorés afin d'éviter toute espèce de phénomènes toxiques. Dans un cas en effet, des animaux préalablement colorés au rouge neutre furent maintenus dans la glacière pour que le développement soit retardé. Après quelques jours dans cette obscurité ils moururent, alors que d'autres, du même âge, mais sans coloration, restaient parfaitement normaux dans le même milieu. D'autre part, des têtards colorés au rouge neutre et éclairés par la lumière solaire reçue à travers la fenêtre, furent tués après une demi-heure d'exposition seulement. Tous les animaux maintenus à la lumière diffuse dans la salle des aquariums vivaient et se développaient après coloration d'une façon tout à fait semblable à celle d'animaux non-colorés.

Des effets toxiques sont faciles à produire sur les têtards par des concentrations trop élevées de rouge neutre ou bien par un temps de coloration trop long (PARAT et PAINLEVÉ 1925e). Dans ce cas, les vacuoles préexistantes ne sont pas seules colorées, mais les cellules absorbent des quantités de plus en plus grandes de colorant, et offrent des aspects pathologiques caractérisés par la formation anormale de vacuoles nouvelles. Il est très facile par quelques expériences simples de se familiariser avec les conditions optima de coloration. En général, il est possible de trouver par l'examen vital direct, sans coloration, les vacuoles colorables vitalement, si l'on sait à l'avance dans quel endroit il faut les chercher. Par ce moyen, on *peut* vérifier les observations et on *doit*, donc, les vérifier dans tous les cas où les conditions optiques le permettent.

Après coloration, les animaux doivent être examinés de préférence à l'aide d'un objectif à immersion. Pour cela,

dans le cas des premiers stades et dans les endroits épais des têtards plus avancés, il faut dissocier les animaux soigneusement avec des aiguilles et séparer ainsi les cellules. Pour les cellules épithéliales de la queue, ceci n'est pas nécessaire puisque la membrane caudale est suffisamment mince pour permettre l'examen en place, avec les objectifs les plus forts, sans aucune dissociation. On peut ainsi comparer aux cellules des tissus dissociés mécaniquement, des cellules colorées *in situ*, avec la certitude qu'elles n'ont pas subi d'altération.

Le temps nécessaire pour colorer les différents tissus d'un têtard varie avec les organes. Alors qu'il suffit de peu de temps pour colorer les cellules épidermiques, il faut plus longtemps pour atteindre et colorer les viscères, de telle sorte qu'une coloration convenable pour les viscères correspond déjà à une surcoloration et à une altération des cellules épithéliales. On reviendra sur cette question, en parlant du vacuome des cellules épithéliales.

Pour les stades de l'ovogénèse, la méthode fut légèrement différente. L'ovaire du Discoglosse est un organe sur lequel la coloration vitale s'accomplit avec difficulté. La méthode post-vitale, consistant à mettre l'organe dans une solution physiologique contenant du rouge neutre, ne convient pas, alors qu'elle est très suffisante pour d'autres ovaires, celui de la Perche par exemple. En effet, avant que les vacuoles soient colorées, les cellules meurent, ce qui est démontré par la coloration du noyau. Il nous a donc été nécessaire d'injecter le colorant dans l'animal vivant et même en quantités assez considérables. Les meilleurs résultats furent obtenus par injection de deux centimètres cubes de rouge neutre saturé à chaud, dans une solution de Ringer, en injections soit sous-cutanées, soit pratiquées dans le péritoine ou dans le tube digestif, alternativement, chaque jour pendant dix jours. Après cela, les ovaires furent dissociés dans du Ringer et examinés sous le microscope.

On a déjà fait remarquer que la coloration vitale au rouge neutre fut la première méthode employée. Elle fut aussi la

dernière, car, après avoir étudié les coupes et les résultats des méthodes histochimiques, on a repris l'étude sur le vivant pour vérifier autant que possible les observations.

Sur les animaux vivants nous avons employé d'autres colorants tels que le vert Janus pour les mitochondries, le sulfate de bleu de Nil pour les graisses neutres, le bleu de méthylène et le bleu de crésyl brillant pour certaines inclusions cytoplasmiques. Les tissus furent observés en lumière polarisée lorsque cela était nécessaire et certaines épreuves histochimiques ont été faites sur les tissus frais.

Nous avons en outre utilisé la technique des coupes en variant au maximum les fixateurs et les colorants. Pour la topographie, le Bouin, le Bouin-Hollande, et le formol ordinaire, salé ou neutre, à 10%, furent employés ; pour le cytoplasme en général, la meilleure technique nous a paru être celle de Dietrich, modifiée par PARAT (1926c) qui fixe admirablement les mitochondries. Les graisses neutres ne sont pas fixées mais le cytoplasme est conservé sans rétraction et les espaces laissés par les graisses restent nettement délimités. Dans quelques cas heureux, on peut également retrouver en place les éléments du vacuome. A la suite de cette fixation, la coloration de VOLKONSKY (1928) nous a donné des résultats excellents. Après l'action des liquides de CHAMPY, BENOIT, MANN, etc... nous avons pu étudier les graisses noircies par l'osmium. Pour l'appareil de Golgi par les méthodes classiques on a eu recours comme KOLATCHEV ou NASSONOV, à un séjour prolongé dans l'acide osmique à 2 % à 37° suivi quand c'était nécessaire d'un blanchiment d'après PARAT et PAINLEVÉ (1925e), et, d'autre part, aux méthodes argentiques de CAJAL et de DA FANO. Des fixations spéciales au point de vue histo-chimique ont été faites, tel que l'acétate de cuivre-formol pour les acides gras (BENDA), salicylate de calcium pour les savons (FISCHLER), la méthode de HALL pour le fer, celle de MAC-CALLUM ou ses modifications pour le phosphore, la réaction nucléale mise au point par VERNE (1927) d'après FEULGEN. Pour les réactions histochimiques qui ne sont

pas décrites dans le texte nous renvoyons à l'article de PARAT (1927*b*). Pour le glycogène, la fixation fut faite dans l'alcool absolu ou dans le Carnoy sans acide acétique suivi d'une coloration au Carmin de Best ou à la gomme iodée. Si les coupes sont collées sur lamelle et non sur lame, on peut les examiner avec les plus forts grossissements même avec une couche très épaisse de gomme iodée. Pour les lipoides, les méthodes de Dietrich et de Ciaccio furent comparativement employées.

Dans la période de développement des têtards, afin que la comparaison des stades successifs soit plus exacte, des coupes d'à peu près une douzaine de stades, faites à la même épaisseur après une même fixation, furent collées côte à côte sur une même lame. Nous avons ainsi une coloration uniforme, et par suite, une base de comparaison plus exacte. Pour les préparations d'imprégnations à l'osmium ou à l'argent, on est sûr par cette méthode d'avoir blanchi tout au même degré, point important dans les études faites par des méthodes aussi capricieuses que les méthodes d'imprégnation métallique.

Le développement de l'œuf

Comme notre intention est de suivre principalement dans ce travail le comportement des réserves, nous débuterons par l'étude de l'œuf dans l'ovaire, où nous assisterons à l'élaboration de ces réserves. Dans les plus petits œufs

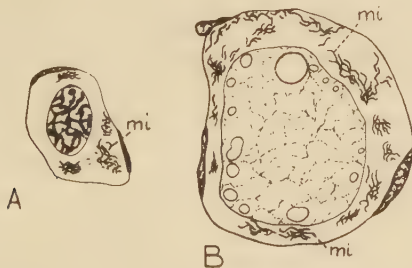


FIG. 1. — Dietrich-Parat, Volkonsky. *A*) Jeune ovocyte montrant mitochondries polarisées. *B*) Dispersion des mitochondries.

ovariens, on trouve les éléments figurés du cytoplasme accumulés et polarisés à l'un des pôles du noyau (fig. 1). On peut analyser cet ensemble, qui n'est pas autre chose qu'un véritable *corps de Balbiani*, à l'aide de différentes techniques. Par la méthode de coloration vitale on trouve un certain nombre de vacuoles qui prennent le rouge neutre. Les imprégnations à l'argent donnent également dans les stades les plus petits, des corps polarisés (dictyosomes). Par les méthodes mitochondriales on trouve que la substance de ce corps est en grande partie composée de mitochondries fines, soit en filaments courts, soit en grains. Elles sont visibles sur le vivant grâce à leur réfringence propre.

Cet état de polarisation dure peu et il est suivi par une dispersion des éléments dans le cytoplasme à mesure que l'œuf devient plus grand (fig. 1 et 3A). Finalement les vacuoles sont localisées à la périphérie de l'œuf où le vitellus commence à se former (fig. 3B). En même temps, des graisses sont élaborées dans le cytoplasme et dans les derniers stades, les graisses se mêlent de façon très intime aux plaquettes vitellines (fig. 2).

Pour la clarté de la description nous suivrons les éléments séparément depuis le stade polarisé, mais il ne faut pas oublier que tout se passe simultanément.

I. — MITOCHONDRIES

La dispersion des mitochondries n'est pas régulière. Les filaments se détachent en groupe de la masse principale et se répandent dans le cytoplasme sous forme de petits nodules où les éléments sont entremêlés et forment comme un feutrage serré. Ces groupes se démêlent petit à petit, mais jamais avant que le cytoplasme ne soit complètement rempli de vitellus, ils n'arrivent à un état de dispersion régulière. Ils affectent dans l'ensemble une disposition en *travées*. C'est probablement une disposition semblable des mitochondries qui donne au cytoplasme fixé par des techniques usuelles, un aspect « craquelé » analogue à celui figuré par CHAMPY ET GLEY (1923) chez les Poissons. A la

suite d'une très bonne fixation on peut résoudre les travées en filaments mitochondriaux. Pendant la dispersion des mitochondries, leur orientation vis-à-vis du noyau semble montrer la présence au sein du cytoplasme de courants centrifuges. Les filaments s'alignent en effet, plus ou moins parallèlement entre eux et toujours perpendiculairement à la surface nucléaire. De plus, pendant très longtemps on remarque autour du noyau une zone assez importante de cytoplasme homogène et basophile, dépourvue d'éléments figurés, et, en dehors de cette zone, une concentration des éléments figurés comme si ces derniers avaient été repoussés mécaniquement à partir du noyau (fig. 2D). La basophilie d'une part, la disposition des éléments figurés d'autre part, sont les seules preuves en faveur de l'existence d'émissions nucléaires dans le cytoplasme. Mais cette émission se ferait sous une forme diffuse. La membrane nucléaire apparaît du reste, très contournée, comme bourgeonnante, dans les coupes.

Les autres éléments cytoplasmiques, les vacuoles, puis les plaquettes de vitellus et les globules de graisse évoluent dans les mailles de ce que l'on pourrait appeler le grand réseau mitochondrial réparti dans tout le cytoplasme. Quand l'œuf est devenu opaque à cause du vitellus et de la graisse, les mitochondries sont visibles pour quelque temps entre les autres corps. Finalement, elles deviennent granuleuses. Dans l'œuf mûr, il reste de petits grains mitochondriaux entre les plaquettes vitellines, surtout à la surface de l'œuf parmi les grains de pigment. Les mitochondries donnent toujours les réactions lipoïdiques de Ciaccio et de Dietrich. Elles sont bien fixées par le Dietrich-Parat et par les fixateurs osmiés.

Dans les ovocytes très avancés au point de vue vitello-genèse, ayant un diamètre de 0,7 à 1 millimètre, on trouve de nouveau une élaboration de lipoides dans un endroit bien délimité, à côté du noyau, vers le pôle végétatif de l'œuf. On peut distinguer dans cette masse, des mitochondries filamenteuses (fig. 9, planche X). Ces lipoides se

dispersent rapidement parmi les plaquettes de vitellus. On a l'impression, à ce stade, que l'ovocyte ayant un instant perdu sa polarisation au cours de la dispersion de ses constituants, l'a réacquise, sans qu'on puisse affirmer d'ailleurs que cette polarisation est la même que celle qu'on observait primitivement et qu'elle se perpétue jusqu'à la maturité.

II. — LES GRAISSES

La méthode la plus favorable pour observer les changements subis par les graisses dans l'ovocyte est la fixation au formol à 10% dans une solution de NaCl à six pour mille, suivie de coupes à la congélation. Dans les stades les plus petits, où nous avons déjà décrit un corps de Balbiani, composé du vacuome et des mitochondries intimement entremêlées, on ne trouve pas de graisses. Dès que l'on arrive à un diamètre de quarante à cinquante μ , les graisses apparaissent et commencent leur évolution. Les premières graisses visibles dans le cytoplasme sont sous forme de petites gouttelettes isolées et peu nombreuses (fig. 2A). Elles se trouvent toujours localisées dans un endroit très restreint du cytoplasme.

Il est impossible d'observer aucun rapport direct entre les constituants cytoplasmiques et cette graisse qui semble apparaître *per se* au sein du cytoplasme homogène. Le nombre de ces gouttelettes augmente rapidement. Il s'en forme de façon incessante au voisinage immédiat des premières. Elles restent très près de la membrane nucléaire. Quand la quantité de graisse devient assez considérable, on observe leur migration autour du noyau mais cette migration est lente et à courte distance de celui-ci. Les gouttelettes ont tendance à rester en petits groupes. Cependant elles gardent leur taille et leur individualité au lieu de se fusionner pour former des gouttes plus grosses. Avant qu'il y ait la moindre trace de vitellus les graisses se trouvent ainsi autour du noyau où elles forment une couche nettement délimitée du reste du cytoplasme (fig. 2C). A partir de là, elles commencent leur grand mouvement de migration vers le cytoplasme périphérique. Au début, quelques gouttelettes

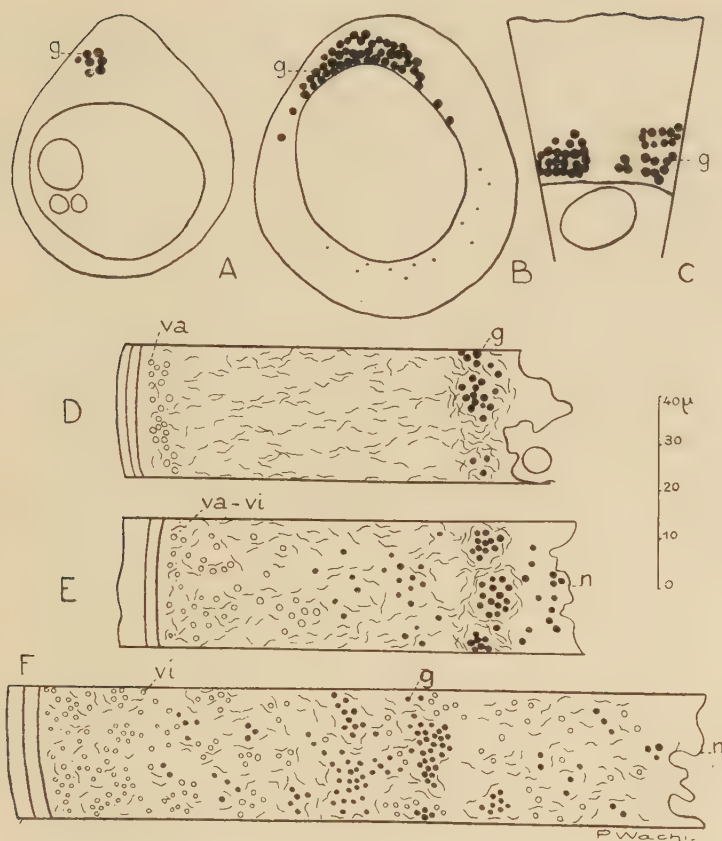


FIG. 2. — Migrations des graisses et du vitellus. *A*, *B*, et *C*, Formol-Soudan III ; *D*, *E*, et *F*, Champy-Altmann. *A*) Première apparition de graisse. *B*) Accroissement de graisses, qui restent, cependant, polarisées. *C*) Secteur d'un ovocyte où les graisses sont distribuées tout autour du noyau d'une façon régulière. *D*) Secteur d'un ovocyte montrant l'apparition du vitellus. *E*) Première migration des graisses et du vitellus. *F*) Mélange des graisses, *G*, parmi les plaquettes vitellines, *V*. Membrane nucléaire, *M*.

isolées se séparent des masses ; ensuite c'est le tour de petits groupes qui se séparent des groupes plus grands, puis l'ensemble marche vers la surface de l'œuf, en se distribuant de plus en plus régulièrement. En même temps que se fait cette nouvelle répartition des graisses et ce, dans un sens

centrifuge, le processus de vitellogénèse commence : les plaquettes vitellines vont se disperser dans une direction centripète si bien qu'à la fin, les plaquettes de vitellus et les gouttelettes de graisses se mélangeront entre elles d'une façon très intime (fig. 2). Il semble que ses corps grasseux correspondent au vitellus gras (« fatty yolk ») décrit par BRAMBELL, GATENBY, et d'autres. Cependant, contrairement à l'opinion de ces auteurs, ces corps n'ont, à leur origine, aucun rapport avec l'appareil de Golgi.

Cette description a été faite d'après l'observation de coupes fixées au formol et colorées par le Soudan III. La même évolution peut être suivie avec d'autres techniques. Tous les fixateurs à base d'acide osmique donnent une coloration noir foncé à ces corps. Cette réaction est élective seulement sur les pièces fixées au Champy, ou au Benoit, sans post-osmification ; après post-osmification il y a une quantité d'autres substances, dans l'œuf, qui sont noircies. Après des fixateurs comme ceux de Bouin-Hollande ou de Helly, la place des graisses est nettement marquée par des vides.

Quelle est la nature de ces graisses ? Quelques épreuves ont été faites surtout au stade qui précède le début de la vitellogénèse. A ce moment, ces graisses sont très abondantes, bien localisées près de la surface du noyau et l'œuf est encore assez transparent pour que les observations puissent être faites sur des coupes très épaisses où même sur l'œuf entier.

Les œufs frais examinés en lumière polarisée, ne montrent aucun corps doué de biréfringence. Ils ne renferment donc pas d'éthers de la cholestérine ou de lécithines qui sont anisotropes.

La technique de Salkovsky est partout négative. Cependant après précipitation préalable de la cholestérine par la digitonine, l'acide sulfurique donne une coloration rose près de la surface de l'œuf mais rien du tout au niveau des graisses. Cela semble indiquer la présence de cholestérine diffuse seulement vers la surface. Des acides gras seraient présents, dans les coupes faites à la congélation après fixation au formol, comme l'indique une coloration bleu foncé avec le

sulfate de bleu de Nil et rouge foncé par le rouge neutre. (Il ne faut pas confondre ces colorations au bleu de Nil et au rouge neutre avec la coloration vitale par les mêmes colorants). Ces acides gras ne sont cependant pas présents sur le vivant, car des fixations à l'acétate de cuivre-formol pour les acides gras, et au salicylate de calcium pour les savons, donnent des résultats négatifs. Il y aurait donc, possibilité de transformation chimique des graisses de l'ovocyte au cours de la fixation. MILLOT et GIBERTON (1927), dans une note récente, ont démontré l'instabilité des graisses après fixation au formol, dans le foie, chez plusieurs espèces, instabilité qu'ils attribuent à l'action d'une lipase.

D'ailleurs, une telle libération d'acides gras aux dépens de graisses neutres, après la mort, fut observée ultérieurement sur le foie de têtards, à la fin d'un examen post-vital de cet organe, préalablement coloré par le rouge neutre. Il est probable que nous avons à faire ici à des corps constitués, en grande partie au moins, de *graisses neutres*. La plupart de ces graisses sont saturées, mais il existe aussi de petites quantités de graisse non saturée ; il s'agit dans ce dernier cas d'oléine, car des coupes à la congélation, mises en présence d'acide osmique pendant vingt-quatre heures, présentent seulement une coloration grise, tandis que si l'on traite ensuite par l'alcool à soixante-dix degrés pendant vingt-quatre heures, la couleur devient noire. On sait que les expériences de Mulon ont démontré que la réduction primaire de l'osmium était l'apanage des graisses non saturées, en particulier d'oléine, alors que la stéarine, ou la palmitine, ne donnent à l'état pur, aucune réduction primaire ; on sait aussi que ces dernières doivent la propriété qu'elles possèdent quelquefois de réduire primairement l'osmium en gris, à la petite quantité d'oléine qu'elles renferment. Dans le cas de *Discoglossus* la couleur grise indique donc la présence de traces de graisses non-saturées, vraisemblablement d'oléine.

Quand les œufs sont mûrs on trouve une légère réaction lipoidique sur les plaquettes vitellines mêmes ; entre ces

plaquettes, se trouvent de nombreuses gouttelettes de graisse et de petits grains lipoïdiques moins fluides, et de nature sans doute plus complexe, et aussi moins solubles dans les solvants des graisses. Dès le stade de dispersion on peut démontrer par les techniques lipoïdiques que ces corps sont devenus plus complexes qu'auparavant.

III. — L'APPAREIL DE GOLGI

Avant de commencer l'histoire de l'évolution de cet appareil dans les œufs de *Discoglossus* il nous paraît nécessaire d'indiquer ce que l'on entend dans ce cas par l'« appareil de Golgi », et par quelles méthodes il est possible de le déceler. Dans la littérature de l'ovogenèse, la plupart des corps décrits sous le nom d'appareil de Golgi sont les corps qu'on peut imprégner soit par l'osmium, soit par l'argent. En outre, WEINER (1925*B*) a décrit sous le nom d'appareil de Golgi chez les Myriapodes, des corps fixés par le liquide de Helly et colorés par la fuchsine ou l'hématoxyline. Il semble que Weiner parle d'éléments peu comparables à l'appareil de Golgi des autres auteurs qui ont toujours trouvé que les méthodes d'imprégnation lente étaient seules capables de démontrer cet appareil dans les œufs. Ces méthodes classiques sont l'imprégnation à l'osmium d'après Kolatchev ou Nassonov, ou à l'argent d'après Cajal ou Da Fano. Ces méthodes ne sont pas absolument spécifiques car les mitochondries s'imprègnent dans certains cas avec l'argent ou l'osmium, et les graisses noircissent presque toujours avec l'osmium. En faisant des imprégnations et en les comparant avec les résultats des autres techniques usitées dans l'étude des mitochondries et des graisses de façon à éliminer tout ce qui en dehors de l'appareil de Golgi peut être reconnu comme l'élément spécifique du cytoplasme, on arrive à isoler des corps noirs qui se trouvent dans les mêmes endroits, à chaque stade comparable du développement. Ces corps sont chez *Discoglossus* presque toujours de petites sphères mais pourtant, quelquefois ils paraissent en

forme d'anneaux ou de croissants. En tous cas ils ne forment jamais un réseau.

Une autre méthode pour l'appareil de Golgi a été mise en œuvre surtout par PARAT et ses collaborateurs, c'est la coloration vitale par le rouge neutre. Ils ont démontré dans des cellules très variées, à des stades de fonctionnement aussi très variés, et dans un grand nombre d'espèces animales, l'homologie qui existe entre les vacuoles colorables avec le rouge neutre et l'appareil de Golgi imprégnable par les méthodes classiques. Dans les cas où cette homologie n'est pas évidente, on doit toujours douter de l'identité des corps imprégnés et désignés du nom d'appareil de Golgi, car trop souvent les techniques destinées à la mise en évidence de cet appareil sont restées étroitement unilatérales et l'on a, en l'absence de techniques convergentes, trop tendance à appeler corps de Golgi, toute substance noircie par les imprégnations ; nous avons déjà fourni avec Maurice PARAT (HIBBARD et PARAT, 1927), un exemple typique de cette confusion possible chez la Perche : des corps de Golgi d'apparence parfaitement authentique n'étaient pas autre chose que des mitochondries altérées.

Nous avons déjà parlé d'un stade polarisé au commencement de la période de croissance des œufs, stade où l'on trouve les vacuoles polarisées, intimement mêlées aux

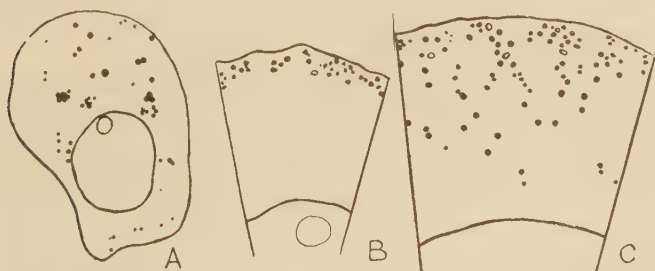


FIG. 3. — Imprégnations à l'argent montrant les vacuoles et la première migration du vitellus. *A*) Oocyte pendant la dispersion du corps de Balbiani. *D*, dictyosomes ou vacuoles. *B*) Localisation des dictyosomes, ou jeunes plaquettes vitellines, à la périphérie. *C*) Migration centripète du vitellus encore fortement hydraté, et donc imprégné.

mitochondries. Cette polarisation persiste pendant assez longtemps, après que les mitochondries se sont réparties dans le cytoplasme. Les vacuoles ont tendance à émigrer ensuite vers la périphérie de l'œuf. Il n'y a donc pas la moindre difficulté à les distinguer des gouttelettes grasses qui restent tout près du noyau. La perte de la polarisation de l'œuf est indiquée par le comportement de tous les éléments figurés du cytoplasme, et parmi eux, des vacuoles. Elles se répandent toujours petit à petit, vers la surface de l'œuf. Ainsi, au stade où la localisation des graisses est la plus nette dans la zone péri-nucléaire, on remarque une localisation des vacuoles à la périphérie de la cellule.

La relation entre les vacuoles et les mitochondries est spécialement mise en évidence par l'examen vital qui démontre la présence d'éléments du chondriome entre les vacuoles, ainsi que PARAT et PAINLEVÉ (1925*B*) l'ont observé antérieurement chez l'*Axolotl*, et que l'ont vu, chez la Perche, HIBBARD et PARAT (1927). Ce dernier cas montre en particulier combien il est aisé de se tromper dans l'analyse histochimique des vacuoles, en raison des lipoïdes qui les environnent. Mais, après la dispersion des éléments, cette relation intime n'existe plus ; ainsi la zone la plus riche en mitochondries est près de la zone de concentration des graisses.

IV. — FORMATION DU VITELLUS

Dès que les vacuoles, où éléments golgiens noircis à l'argent forment une couche localisée juste au-dessous de la membrane cellulaire, le contenu de ces corps subit une transformation chimique. Il se colore moins fortement par le rouge neutre, et commence à être fixé par des fixateurs comme le Champy ou le Dietrich-Parat. Les imprégnations métalliques ne montrent pas de changements, tout est noir comme avant. A partir de ce moment il s'agit en réalité de jeunes plaquettes de vitellus qui vont devenir de plus en plus visibles après n'importe quelle fixation et leur évolution

pourra être suivie sans difficulté jusqu'au stade de maturité complète.

Avant de continuer les descriptions de leur changement de place et de composition, nous nous étendrons un peu sur leur mode d'origine. La question de la vitellogénèse chez les divers animaux a fréquemment retenu l'attention des cytologistes ; mais de l'ensemble de ces travaux on ne peut tirer que des conclusions contradictoires, sans doute parce que les observations vitales n'ont été que très rarement pratiquées. Pour beaucoup d'auteurs, le vitellus est produit par une transformation directe des mitochondries en plaquettes vitellines. Les travaux cités de HIRSCHLER, MARGARET MURRAY, LAMS, KONOPACKI, et GAJEWSKA concluent en ce sens. GARDNER, chez *LIMULUS*, observe seulement une relation très intime entre les mitochondries et le vitellus. AVEL, chez la Grenouille n'a pas vu une telle transformation. Il est d'autres auteurs qui pensent que l'appareil de Golgi prend part à la vitellogénèse ; seulement, on se retrouve ici en face d'une difficulté déjà signalée. Tout ce qui est nommé « appareil de Golgi » ne correspond pas toujours au même élément. Ces cas différents sont d'ailleurs considérés plus longuement dans le travail de PARAT (1928). Cette objection mise à part, on trouve l'appareil de Golgi comme substance productrice du vitellus dans les travaux de STEOPOE, WHEELER, BRAMBELL, PARAT, PARAT et PARAT, HIBBARD et PARAT, WEINER, LUDFORD, NATH, GATENBY et d'autres. Enfin, dans d'autres cas, l'origine du vitellus n'est pas liée aux éléments cytoplasmiques préexistants, mais il se formerait, comme les graisses chez le Discoglosse, par précipitation et condensation au sein du cytoplasme homogène. Telles sont les conclusions de G. LÉVI, de HARVEY, HUSSEIN, GUTHRIE, GATENBY et WOODGER. On peut d'ailleurs se demander dans ce dernier cas si les observations sur le vivant n'auraient pas mis en évidence des corps préexistants.

De toute façon chez le Discoglosse, les liquides vacuolaires qui diffusent en général après la mort avec tant de rapidité

qu'ils ne sont que difficilement fixés, deviennent à un moment donné plus concentrés. Ces concentrations ou précipitations correspondent aux premières ébauches du vitellus. Les vacuoles gardent encore quelque temps leur colorabilité par le rouge neutre et leur capacité d'être imprégnées par les substances métalliques. En d'autres termes, elles restent aqueuses mais, comme nous le verrons plus loin, elles perdent peu à peu ce caractère.

De sa position périphérique, le vitellus commence à émigrer dans la profondeur du cytoplasme. Les graisses de leur côté se sont déjà mises en mouvement. La série de figures (fig. 2, *D*, *E*, *F*) montre nettement ce mouvement centripète du vitellus et le mouvement centrifuge des graisses qui aboutissent finalement à une dispersion plus ou moins égale des deux éléments. Pourtant, cette dispersion n'est jamais complètement égale, car, quoique le vitellus se trouve réparti partout, les graisses sont présentes en plus grande quantité dans la partie moyenne du cytoplasme. Il y a une zone mince, tout autour de la surface de l'œuf, qui se trouve dépourvue de graisses.

Au commencement de leur migration, les plaquettes de vitellus sont de petites sphères, mais au cours de leur croissance elles deviennent ovales et plates. Dans leur état sphérique, elles sont colorables par le rouge neutre. Même dans un œuf déjà bourré de vitellus et par conséquent opaque, on peut, en observant les extrémités de l'œuf aplati entre lame et lamelle, constater que les plaquettes de vitellus sont toujours roses. Dans ces stades avancés, il y a aussi du pigment dans tout le cytoplasme mais plus particulièrement vers la surface et ce pigment se colore par le rouge neutre.

Au cours de leur croissance, les grains de vitellus tendent à devenir incolores par le rouge neutre. En effet, peu à peu, le centre de chaque plaquette est déshydraté au point de ne plus prendre la coloration ; il existe cependant, à sa surface une mince couche d'eau, ou de substance en solution aqueuse, l'ensemble affectant l'aspect caractéristique des

grains rhagiocrines de RENAUT, c'est-à-dire, un anneau ou un croissant rouge autour de chaque plaquette. Il est important de noter qu'on peut imprégner cette couche superficielle colorable vitalement, par l'argent, sous forme de « dictyosome » embrassant intimement chaque plaquette. Quand la croissance est complètement achevée il n'y a plus rien de colorable vitalement sauf les grains de pigment. D'autres cas de déshydratation du vitellus dans l'ovogénèse ont été décrits par PARAT (1927A) chez *Aplysia* et *Chrysaora*, et par PARAT et PARAT (1927) chez *Paracentrotus*. Chez *Discoglossus*, comme dans les cas d'*Aplysia* et de *Chrysaora*, l'incolorabilité de l'œuf par le rouge neutre correspond à l'absence de l'appareil de Golgi imprégnable à l'argent.

V. — GLYCOGÈNE

Pour la mise en évidence du glycogène, on s'est servi de la coloration au carmin de Best et à la gomme iodée, après fixation à l'alcool absolu. Les résultats les plus exacts furent donnés par la gomme iodée. Dans les petits ovocytes avant la formation du vitellus il n'y a pas de glycogène. Dans certains cas cependant, il y avait une coloration diffuse, à peine visible, dans le cytoplasme. Peut-être est-elle due à de faibles traces de glycogène mais la coloration est très pâle. Par contre, KONOPACKI et KONOPACKA dans les premiers stades du développement de l'œuf de la Grenouille, ont décrit dans la partie périphérique de l'ovocyte, des grains de glycogène qui seraient utilisés dans la vitellogénèse. Chez *Discoglossus*, le glycogène apparaît en grande quantité à un stade très avancé, au moment même où se forment les lipoïdes signalés plus haut. Cette substance se trouve très concentrée autour du noyau mais elle se répand, partout, entre les plaquettes vitellines (fig. 8, pl. X). Quand l'œuf est complètement mûr elle reste encore très visible entre les plaquettes de vitellus, mais elle apparaît plus concentrée dans les régions où les graisses le sont le moins.

Nous insisterons sur le fait que ni ici, ni dans les cellules des têtards plus âgés, les lipoïdes et les grains de glycogène

ne prennent la coloration vitale au rouge neutre, ce qui paraît contraire à l'opinion de KONOPACKI et KONOPACKA.

VI. — ACIDE NUCLÉIQUE

Pour apprécier le rôle de quelques substances nucléaires dans l'évolution cytoplasmique des œufs, nous avons eu recours à la réaction nucléaire de FEULGEN. Cette réaction à la fuchsine acide-sulfureux est positive, on le sait, sur les aldéhydes, mais, dans la cellule animale, après hydrolyse



FIG. 4. — Sublimé-acétique, Réaction « nucléale ». *A*) Jeune ovocyte montrant le noyau coloré intensément. (La légère coloration du corps de Balbiani à ce stade n'est pas indiquée sur la figure). *B*) Le noyau perd sa coloration intense. (Cytoplasme incolore à la suite de la dispersion du corps de Balbiani). *C*) Noyau presque incolore ; à partir de ce stade, le cytoplasme commence à se colorer.

des acides nucléiques qui composent les nucléines, il ne reste que l'acide thyminique susceptible de fournir la réaction après une hydrolyse plus complète. La réaction nucléale devient donc ainsi une réaction mettant en évidence l'aldéhyde de l'acide thyminique, ou, d'une façon plus générale, l'acide thymonucléique et les nucléines. Pour l'ovaire de *Discoglossus* la durée optima de l'hydrolyse fut de douze minutes. Sans elle, chez un témoin laissé dans le réactif pendant une heure et demie, temps de la réaction normale, les noyaux restèrent incolores ; après hydrolyse, au contraire les noyaux des cellules folliculeuses apparurent vivement

colorés. Il s'agit donc, comme VERNE l'indique, d'une réaction chimique et non d'une simple coloration à la fuchsine.

Or, dans les ovocytes très petits où il y a une polarisation des éléments cytoplasmiques, le noyau donne une réaction nucléale positive très forte, comparable à celle que présentent de façon constante, les noyaux des cellules folliculeuses (fig. 4A) ; le cytoplasme reste incolore sauf dans la région du corps de Balbiani. A ce niveau, en effet, on observe une légère coloration rose, assez nette, mais moins vive que celle des filaments chromatiques du noyau. Au moment de la dispersion des éléments cytoplasmiques et de l'accroissement du noyau, celui-ci se colore moins fortement et seulement sur les granulations chromatiques. Le cytoplasme, ayant perdu sa polarité, devient incolore (fig. 4B). Ensuite, le noyau ne se colore plus (fig. 4C) ; mais en même temps, le cytoplasme prend une coloration rose très nette. Pendant la croissance et la formation du vitellus, la coloration devient de plus en plus pâle, mais même dans l'œuf mûr, les plaquettes vitellines, surtout les plus grandes, fournissent encore une réaction positive. La coloration du noyau, à ce moment, est négative ou extrêmement légère, contrastant remarquablement avec les noyaux des cellules folliculeuses, qui prennent une coloration rouge violacé intense. Lorsque la réaction est positive, il est à remarquer que les nucléoles la donnent d'une façon moins forte que le coagulum général du noyau. Ce fait est extraordinaire puisque CARNOY et LE BRUN ont montré que chez les Anoures, les nucléoles du noyau de l'ovocyte représentent l'élément nucléinien de ce noyau, et qu'ensuite ils se transforment directement en chromosomes.

Ces observations prouvent qu'après hydrolyse les noyaux au commencement de la croissance, contiennent beaucoup d'acide thyminique ; à ce moment, cette substance manque, au contraire dans le cytoplasme, sauf au moment où elle apparaît au niveau du corps de Balbiani. Après la croissance, l'acide thyminique diminue dans le noyau ou devient plus dilué alors qu'il apparaît dans le cytoplasme soit par

néo-formation (?) soit par diffusion à partir du noyau ; il se fixe à ce stade sur les plaquettes vitellines. Mais il y a un fait remarquable, c'est qu'à partir du stade de coloration diffuse du cytoplasme, on décèle la présence de l'aldéhyde, sans hydrolyse préalable. On se trouve ainsi amené à conclure que dans le cytoplasme, ces substances existent sous une forme plus simple que dans le noyau. Il ne peut s'agir de simples colorations ; car des réactions faites en même temps, avec les mêmes réactifs, sur des têtards avancés et sur des tissus d'un autre animal ne donnaient absolument rien sur le cytoplasme. Cela tend à prouver l'existence dans le cytoplasme de l'œuf, de quelque chose qui est visible dans le noyau seulement après hydrolyse, et qui pourrait être considéré comme un élément précurseur des futures nucléines de l'embryon. On verra plus loin dans l'étude de la segmentation de l'œuf comment le noyau donnera à nouveau une réaction positive, réaction qui est perdue par le cytoplasme au cours de la digestion du vitellus. Mlle LE BRETON et SCHAEFFER ont examiné les rapports nucléo-plasmiques au point de vue des nucléines dans les embryons. Nous reviendrons plus loin sur ce point, mais déjà il nous paraît intéressant de noter ces rapports dans l'œuf ovarien. Ces auteurs déprécient quelque peu les observations des cytologistes en déclarant, « l'acide nucléinique, constituant spécifique des noyaux, n'a pas de couleur pour le biochimiste, mais il a une formule ». Cependant, s'il s'avère que la réaction nucléale est une véritable réaction chimique on devra être reconnaissant à FEULGEN et à ses disciples de lui avoir donné une couleur.

Ainsi, nous arrivons au stade de l'œuf mûr dans lequel nous trouvons du pigment répandu partout mais plus condensé à la surface, des graisses en grande quantité sous forme de petites gouttelettes mêlées aux plaquettes de vitellus qui occupent tout le cytoplasme, des mitochondries granuleuses plus nombreuses vers la surface de l'œuf mais aussi réparties un peu partout, du glycogène distribué de la même façon. Le noyau, ou vésicule germinale, est rompu

et il n'y a plus trace de membrane nucléaire. Il n'existe plus de « phase aqueuse » colorable par le rouge neutre.

Que sait-on actuellement des substances chimiques contenues dans l'œuf ? Sur un autre Batracien, la Grenouille, nous possédons les chiffres des analyses faites par TERROINE et BARTHÉLÉMY, par FAURÉ-FRÉMIET et du VIVIER DE STREEL, et ceux de NEEDHAM. Il est bien probable que l'œuf de *Discoglossus* contient des substances semblables et nous pouvons provisoirement utiliser les analyses de ces auteurs, par exemple, les chiffres de FAURÉ-FRÉMIET et du VIVIER DE STREEL (1921). Dans l'œuf mûr, ils trouvent 57, 6% d'eau, 3,31% glycogène, 10, 14% lipoides et 26, 51% vitellus. Dans le vitellus il y a seulement 7% d'eau. Cette déshydratation du vitellus est en accord avec l'absence de coloration vitale au rouge neutre. Chimiquement le vitellus est composé d'une vitelline ou paranucléoprotéide et d'une kératine. Le glycogène a été identifié cytologiquement ; les lipoides aussi, par l'acide osmique ou le Soudan III. Au point de vue chimique, les lipoides se divisent en cholestérol 5,97%, insaponifiable X, 7, 10%, et acides gras fixes 86, 92% (Sous la forme de phosphatides, 25% et de graisses neutres 62%). Dans l'œuf, les graisses neutres sont faciles à mettre en évidence avec le bleu de Nil sur le vivant, et l'acide osmique et le Soudan III sur les pièces fixées. Les autres lipoides semblent être répartis en petits grains, mais aussi, les plaquettes de vitellus donnent une légère réaction lipoidique à la fin de la vitellogénèse.

VII. — LES MEMBRANES EXTÉRIEURES

A la fin de sa période de croissance, l'œuf est rempli de substances nutritives dont nous suivons plus tard la destinée dans l'embryon. L'œuf, avant de quitter l'ovaire, subit un changement extérieur : le pôle animal devient noir, par concentration du pigment dans cet hémisphère. Le noyau se trouve, dans les coupes, près de la surface, au pôle animal. Le premier changement de forme de l'œuf se traduit à ce niveau, par un aplatissement au milieu de la zone pigmentée.

Ce point n'a pas un rapport très exact avec le point d'attache de l'œuf. L'épithélium de l'ovaire qui forme autour de l'œuf une enveloppe de cellules folliculeuses, est relié au reste de l'organe par un mince pédoncule suspenseur qui se trouve aussi souvent sur l'hémisphère non-pigmenté que sur l'autre, sans jamais avoir toutefois son insertion au sommet du pôle animal ou à celui du pôle végétatif ; il se trouve toujours entre les deux, à une distance variable de l'un et de l'autre. Or, BELLAMY (1919), par des injections du système vasculaire de l'ovaire de la Grenouille, a montré qu'à partir du suspenseur, les branches de l'artère se répandent sur l'un des hémisphères tandis que les branches qui forment la veine se trouvent sur l'autre. C'est la raison pour laquelle il croit à un mécanisme d'échanges, différent selon qu'on s'adresse à l'un ou à l'autre des deux hémisphères de l'œuf, échanges entraînant une répartition différente des matériaux entre ces deux hémisphères.

Le pigment de l'aire aplatie du pôle animal tend maintenant à émigrer hors de cette aire. On voit, d'abord, un point gris au centre de celle-ci, puis un disque gris clair se détachant sur la surface très noire. Cette répartition nouvelle du pigment est très évidente dans les coupes. Le noyau est remarquable, à ce moment, par sa forme de grande vésicule sphérique encore entourée de sa membrane. Dans la région du disque gris, un peu au-dessus du noyau, on remarque la raréfaction du pigment bien que quelques grains y subsistent toujours. A la limite du disque, le cortex de l'œuf se montre rempli brusquement de très nombreux grains pigmentaires.

Simultanément avec ces modifications dans l'œuf proprement dit, on observe dans les enveloppes des changements qui deviendront plus tard très prononcés. (Voir HIBBARD et WINTREBERT, 1928). L'épithélium folliculaire très aplati à la fin de l'ovogénèse, est séparé de la membrane de l'œuf par une sécrétion homogène formant tout autour de l'œuf une membrane continue, accolée à sa surface sauf en une région, celle du disque gris ; et elle en est séparée par un espace assez large, rempli d'un contenu qui, sur les pièces

fixées, forme un coagulum très visible. Cette membrane est un chorion d'origine folliculaire. Sa partie qui surplombe le plateau ovulaire se montre nettement plus épaisse.

Peu de temps avant la déhiscence de l'œuf, la vésicule germinative éclate, sa membrane disparaît, et, à partir de ce moment, la substance nucléaire occupe une zone diffuse sous-jacente au sommet du pôle animal. La première division de maturation se passe pendant la descente de l'œuf dans l'oviducte, le globule polaire étant expulsé dans la cupule dont nous allons parler et qui a fait quelque temps auparavant son apparition au pôle animal. Cette cupule étant très caractéristique des œufs de Discoglosse nous allons examiner en détail son apparence et son sort final.

Les œufs abdominaux pris chez la femelle, c'est-à-dire après leur déhiscence mais avant leur entrée dans l'oviducte, gardent leur forme telle qu'elle a été observée dans l'ovaire. Ces œufs, à peu près sphériques, sont aplatis au pôle animal. Dans la partie supérieure de l'oviducte, il se produit un changement rapide dans la forme des enveloppes. Le chorion se gonfle énormément dans la région du disque gris, et à ce gonflement propre viennent s'ajouter des sécrétions supplémentaires venues à la fois de l'œuf en dedans et des cellules de l'oviducte en dehors. En dedans, le cytoplasme de l'œuf se rétracte au pôle supérieur en formant une cupule profonde, remplie d'une substance qui se coagule en masse par les fixateurs. Simultanément, la zone nucléaire perd la forme plus ou moins ovoïde qu'elle avait gardée malgré son état de diffusion, depuis la disparition de la membrane nucléaire, et elle devient très large et peu profonde en forme de soucoupe, sous la cupule. Il est fort probable que la rétraction locale de l'œuf est le résultat de l'expulsion hors de la cellule de liquides libérés du noyau. En tout cas, la zone nucléaire diffuse devient beaucoup moins considérable, en même temps qu'on aperçoit une accumulation de liquide hors de l'œuf, exactement en face de la zone en question et au-dessous du chorion folliculaire. En même temps que se fait cette expulsion, on remarque que la membrane de l'œuf

développe une véritable bordure striée qui occupe toute la surface de la cupule, mais est notablement plus accentuée, tant par la hauteur que par la netteté de la striation, au fond de celle-ci. C'est pour nous la preuve que cette membrane est une *zona radiata*.

En dehors de l'ancienne membrane folliculaire, une nouvelle sécrétion des cellules de l'oviducte est déposée. En descendant l'oviducte, l'œuf est mis en marche par les contractions du tube et sauf dans la partie supérieure de ce conduit toutes les coupes observées, toutes les dissections faites, montrent les œufs descendant le *pôle végétatif en avant*. L'origine de cette orientation ne peut être imputée uniquement à l'action de la pesanteur, mais très probablement au fait de l'aplatissement préalable du pôle animal, car la pression sur la surface de l'œuf, s'exerce partout sauf au niveau du contre-courant immédiatement postérieur à l'œuf descendant. Dans ces conditions l'œuf adapte et oriente ses surfaces arrondies aux pressions exercées par le cylindre tubaire. Les sécrétions de l'oviducte, comprimées en une mince couche partout ailleurs par ces pressions, manifestent une tendance évidente à s'accumuler derrière l'œuf (fig. 7, planche X). Comme résultat, un bouchon conique à base interne, étroitement appliqué sur la région épaissie du chorion se forme en cet endroit. On voit donc que l'œuf de *Discoglossus* possède une cupule à son pôle dorsal, fermée par un appareil constitué à la fois par un épaississement du chorion et par le dépôt d'une substance d'origine tubaire autour de l'œuf, spécialement abondante à son pôle dorsal. Dans la cupule, est enclose une substance sécrétée par l'œuf lui-même entre la *zona radiata* et le chorion. La disposition de ces enveloppes est indiquée dans la fig. 7, planche X.

Quant aux réactions chimiques de ces enveloppes, nous savons que la partie intérieure du bouchon ainsi que la membrane qui dérive de l'épithélium folliculaire donnent une réaction positive avec le Derrien-Turchini, ou avec le Millon ; ils contiennent donc des substances protéiques. La couche gélatineuse de l'extérieure ne donne aucune réaction avec

ces méthodes. Mais, comme chez la Grenouille où la présence d'une mucine a été signalée, nous avons pu obtenir au niveau de cette couche une réaction positive avec le muci-carmin.

Avec la réaction nucléale, on observe une très légère coloration de la substance expulsée de l'œuf et qui constitue la partie profonde du bouchon. Ceci s'accorde parfaitement avec l'hypothèse que cette sécrétion provient de la vésicule germinative après son éclatement.

Le sort de ces enveloppes, dans les stades de développement ultérieur, a été étudié également sur les œufs vivants et sur les coupes fixées. Après fécondation, la pression à l'intérieur de l'œuf redevient progressivement ce qu'elle était avant l'expulsion nucléaire, et l'œuf reprend sa forme sphérique ; ce retour à la forme initiale ne peut être en effet contrebalancé par la pression développée par le bouchon, puisque celui-ci va s'étaler peu à peu et disparaître. Même non fécondé, l'œuf revient à sa forme sphérique par une égalisation beaucoup plus lente de la pression interne et par la destruction bactérienne des membranes extérieures.

P. WINTREBERT a fait des observations sur les œufs vivants et il a comparé les temps de disparition du bouchon. 1^o après fécondation, 2^o sans fécondation dans une solution de spermatozoïdes, et 3^o dans de l'eau pure. Dans le premier cas, une demi-heure après la fécondation, le bouchon tubaire gonflé, élargi, présente un délitement granuleux de ses parties profondes et l'on voit déjà la chambre chorale dépasser la cupule sur les côtés. Au bout d'une heure le bouchon tubaire s'est étalé en une calotte sus-équatoriale dans la chambre capsulaire ; l'épaississement chorial est disparu, la cupule dorsale de l'œuf a fait place à un plateau. Au bout de deux heures, le bouchon est dissous dans une chambre capsulaire complète, visible autour du chorion. Dans le second cas, les œufs présentent au ralenti des phénomènes semblables ; le bouchon ne s'étale sur les côtés qu'après quatre heures, mais il est complètement dissous au bout de vingt-quatre heures. Dans le troisième cas, les modifications se bornent au bout de quatorze heures à un étalement léger

du bouchon au pôle dorsal, accompagné d'un redressement du chorion corrélatif d'un soulèvement du fond de la cupule ovulaire et ne vont pas plus loin après vingt huit heures. La première division apparaît deux heures et demie après la fécondation à 20° C, température à laquelle les observations précédentes ont été faites ; mais bien plus tôt, une demi-heure après la fécondation , par les seules modifications du bouchon, on est capable de reconnaître les œufs qui se développeront.

A quoi attribuer de telles différences ? Il paraît évident que c'est à l'action des spermatozoïdes. Nous avons étudié l'effet des spermatozoïdes sur le bouchon et il est certain qu'ils ont une action très considérable sur sa dissolution.

On sait, grâce aux recherches de CHAMPY, et de PARAT et GAMBIER, que le spermatozoïde de *Discoglosse* est muni d'un très grand acrosome. La formation de cet acrosome a été homologué par PARAT, et avant lui par BOWEN sur d'autre matériel, à la formation d'un grain de sécrétion dans une cellule glandulaire. Est-il possible qu'il ait une fonction comparable à celle d'un grain de sécrétion ? Autrement dit, l'acrosome est-il doué d'action enzymatique ? CHAMPY a indiqué une telle possibilité. Nous avons tenté de résoudre cette question par l'expérience physiologique suivante :

Une femelle sur le point de pondre fut sacrifiée et les œufs furent pris dans l'utérus avec toutes les précautions aseptiques d'usage. A l'aide de pinces et d'aiguilles lancéolées stériles, on a prélevé le bouchon de ces œufs après s'être débarrassé préalablement de la membrane extérieure. Cinq lots de trois bouchons furent ainsi isolés ; chacun fut mis sur une lame creuse stérile. On ajouta au n° 1 une goutte d'eau distillée stérile, au n° 2 une goutte d'eau de l'aquarium non stérilisée, au n° 3 une goutte d'extrait du testicule par dialyse à l'éther suivant la méthode de VON WITTICH, au n° 4 une goutte d'une macération à la glycérine du testicule, et au n° 5 des spermatozoïdes dans une goutte d'eau stérile. Tous les cinq furent couverts, avec des lamelles stériles lutées à la vaseline également stérile.

Au bout de vingt-quatre heures, à la température ordinaire du laboratoire, on a fait les constatations suivantes : les bouchons dans le n° 5 (spermatozoïdes) étaient complètement digérés, à tel point qu'il était impossible de rien retrouver dans la goutte en expérience avec des aiguilles à dissociation. Les bouchons du n° 3 (extrait à l'éther) étaient sérieusement attaqués mais il restait encore un petit peu de substance. Les bouchons du n° 2 (eau non stérile) avaient perdu beaucoup de leur viscosité mais étaient dans un état moins avancé de digestion que dans le n° 3. Dans le n° 4, (extrait à la glycérine) cet effet était encore moindre, et dans le n° 1 (eau stérile) les bouchons étaient simplement un peu gonflés mais pas sensiblement modifiés. De plus, des frottis ont été faits sur des prélèvements des n° 1 (eau stérile) et n° 2 (eau non stérile) ; ces frottis ont été étudiés par les techniques bactériologiques courantes : fixation à la chaleur et coloration au rouge magenta phéniqué. Ils ont démontré la présence de nombreuses bactéries dans le n° 2 et la parfaite stérilité du n° 1.

On peut donc conclure de cette expérience que les spermatozoïdes ont une action digestive sur le bouchon, que le ferment qui produit cette action peut être extrait par l'éther (la glycérine donnant un résultat beaucoup moins concluant); que dans l'eau ordinaire, l'action bactérienne a tendance à dissoudre lentement le bouchon mais plus lentement que ne le fait l'action enzymatique des spermatozoïdes. Ces expériences ne constituent qu'une preuve indirecte de l'action digestive de l'acrosome, mais elles apportent en tous cas une preuve de l'existence d'un tel ferment dans le spermatozoïde ; or, où pourrait-être localisé ce ferment sinon au niveau de l'acrosome, véritable sécrétion de la spermatide ?

Fécondation

La pénétration de l'œuf par les spermatozoïdes a toujours lieu au pôle animal. Dans cette région les spermatozoïdes doivent traverser l'épaisseur formidable du bouchon. Dans les coupes fixées quelques minutes après la mise en présence

des œufs avec la liqueur séminale, on observe de nombreux spermatozoïdes surpris dans leur passage à travers le bouchon, vers l'œuf. Plusieurs spermatozoïdes peuvent entrer dans la substance de l'œuf et on peut voir les spermatozoïdes accessoires dans la partie périphérique du cytoplasme au pôle animal. Le passage d'un spermatozoïde dans le cytoplasme laisse à sa suite une traînée de pigment, et il est possible par ce moyen de reconnaître le chemin des spermatozoïdes. Il est remarquable que la pénétration se fait toujours au point de la surface de l'œuf où les membranes sont les plus épaisses et semblent offrir le plus de résistance au passage des spermatozoïdes. On est forcé de conclure que l'on a affaire ici à des forces physiques ou chimiques qui ne sont pas semblables dans d'autres endroits de la surface de l'œuf. On se rappellera que le liquide contenu dans la cupule a pour origine la vésicule germinative ; or, ce liquide est localisé à la surface de l'œuf, juste au-dessus du pronucleus femelle que doit atteindre le spermatozoïde. Les autres membranes, à savoir, l'épithélium folliculaire et les membranes secrétées par l'oviducte, se trouvent au contraire réparties sur toute la surface, bien qu'elles soient plus épaisses dans le bouchon. Il paraît donc vraisemblable que les substances expulsées du noyau de l'œuf puissent exercer une attraction chimique sur les spermatozoïdes dispersés tout autour de l'œuf.

On a tenté de déterminer l'effet des substances du bouchon isolé sur une suspension de spermatozoïdes afin de préciser le rôle de ce facteur. L'expérience n'a pas été démonstrative parce qu'il était tout à fait impossible de produire par agitation mécanique, une suspension homogène des spermatozoïdes. Chez le Discoglosse ils ont en effet une taille énorme en comparaison d'autres spermatozoïdes mobiles. Ils ont une longueur de plus de deux millimètres. Ceci facilite leur intrication et un grand nombre d'individus sont entrelacés au point qu'il est presque impossible de les séparer. En plus, ces éléments possèdent très peu de motilité propre et n'ont pas tendance à se séparer d'eux-mêmes. L'adjonction de

fragments de bouchon à une suspension de spermatozoïdes ne provoque aucun accroissement de la motilité et du pouvoir d'agglutination de ces spermatozoïdes. Par suite, on ne peut, dans ce cas, tirer de conclusions sur la réaction d'agglutination observée par LILLIE, JUST, et d'autres dans le cas de spermatozoïdes très mobiles.

Dans les fécondations observées sous le microscope, les spermatozoïdes ont été apportés vers l'œuf seulement par des courants d'eau et jamais par leur mouvement propre. Qu'est-ce donc qui assure l'union entre le spermatozoïde et l'œuf, puisque en l'absence de motilité du spermatozoïde celui-ci ne saurait réagir à l'action d'une substance chimique émanée du bouchon. A vrai dire, il semble nécessaire pour la pénétration, que le spermatozoïde se mette en contact intime avec l'œuf après la chute de celui-ci dans l'eau. Aussi, lors de la fécondation artificielle est-il nécessaire de favoriser ce contact au maximum, soit en versant directement le liquide séminal sur des œufs, soit en versant simultanément œufs et spermatozoïdes dans l'eau.

Mais, ayant favorisé ce contact, il paraît nécessaire que le spermatozoïde atteigne le bouchon de l'œuf, lieu d'élection de son entrée, et y adhère. Quelle est la cause de cette attraction ? On a pensé à la possibilité d'entrée en jeu de phénomènes électrostatiques analogues à ceux dont BECHOLD d'une part et V. HENRI d'autre part, ont montré l'importance au cours de l'agglutination des cellules vivantes les plus diverses. On sait qu'à leur suite, CANTACUZÈNE et VLÈS ont mis en évidence l'action de ces facteurs dans l'agglutination des amœbocytes hyalins et des granulocytes par les urnes du Siponcle. Mentionnons également dans cet ordre d'idées les travaux de R. S. LILLIE, GRAY, VLÈS, WALTON et ceux plus récents de FAURÉ-FRÉMIET et NICHITA. VLÈS a plus particulièrement montré chez l'Oursin, l'existence d'une charge négative sur les spermatozoïdes et au contraire d'une charge positive sur les œufs.

Nous avons, de notre côté, cherché à vérifier une telle hypothèse en pratiquant la cataphorèse selon la technique

de MICHAELIS, sur les produits sexuels du Discoglosse. La difficulté de séparer les spermatozoïdes a été déjà signalée mais, par dilution, nous sommes arrivés à isoler suffisamment ces éléments. Ils ont présenté un déplacement indiscutable vers l'anode ; ils sont donc porteurs d'une *charge électrique négative*. Des morceaux de bouchons obtenus par fine dissociation avec des aiguilles furent soumis à la même expérience ; ils se dirigèrent nettement vers la cathode, nous pourrions donc conclure à l'existence d'une *charge positive*. Ces observations s'accordent remarquablement avec les observations de VLÈS sur les Oursins.

Ainsi, les facteurs mis en jeu pour assurer la pénétration des spermatozoïdes peuvent être résolus en charge électrique inverse des éléments, en action digestive des spermatozoïdes, et en localisation de substances chimiques, venant du noyau de l'œuf à l'endroit de la pénétration, localisation dont la signification possible est simplement signalée.

Développement de l'embryon

Après la fécondation, l'apparence extérieure des œufs se modifie en ce qui concerne le bouchon. Ces faits ont déjà été décrits plus haut.

Le temps nécessaire à l'apparition du premier sillon est d'à peu près deux heures et demie après la fécondation, à une température de dix-huit degrés. Une demi heure plus tard, le second sillon apparaît. Les sillons subséquents apparaissent avec beaucoup d'irrégularité mais au bout de six heures, on se trouve généralement en présence d'un stade à trente-deux cellules. Après seize heures, ils sont au stade morula.

Dans la majorité des cas, le premier sillon passait à travers le centre du pôle animal, c'est-à-dire, du disque gris, mais ce fait n'est pas absolument général.

Dans les pages suivantes, il nous faudra, en parlant des cellules des divers tissus, faire référence au stade de développement de l'embryon. Pour standardiser ces descriptions des modifications au cours de l'histogénèse, des stades

arbitraires ont été choisis et numérotés. Comme le développement est influencé par des conditions externes, par exemple la température et la nourriture, ces stades ont été déterminés d'une façon aussi précise que possible. Dans toute la suite du développement, la température de l'eau de l'aquarium a été prise matin et soir et elle variait entre seize et dix-huit degrés. Ces observations ont été réunies dans le tableau suivant (tableau 1, voir aussi planche X, fig. 1-6). Il faut dire qu'après le dixième jour, il y a beaucoup

TABLEAU I

Stade	Aspect Externe	Long ^r moy ^{ne} en mill.	Age	Rapport Corps : Queue
I	4 Blastomères	—	3 hrs	—
II	Jeune Blastula	—	10 »	—
III	Blastula avancée.....	1.5	24 »	—
IV	Gastrula	—	32 »	—
V	Neurula.....	—	40 »	—
VI	Premier Têtard	2	48 »	—
VII	Avant l'Écllosion	2,5-3	2,5 jrs	—
VIII	Après l'Écllosion. Pas de branchies externes	4-5	3-3,5 »	6,3 : 1
IX	Commencement de branchies ex- ternes	5	4 »	4,3 : 1
X	Branchies externes au maximum .	6	4,5 »	2,6 : 1
XI	Apparition de l'Opércule	7-8	5 »	1,9 : 1
XII	Branchies externes à demi couver- tes par l'opercule	8-9	6 »	1,1 : 1
XIII	Branchies complètement couver- tes. Ouverture de l'opercule au mi- lieu du ventre	10-11	7 »	0,82 : 1
XIV	—	12	8 »	0,71 : 1
XV	Premières petites ébauches des pattes postérieures	13	10 »	0,65 : 1
XVI	—	14	11 »	0,62 : 1
XVII	—	15	12 »	0,62 : 1
XVIII	—	17	13 »	0,6 : 1
XIX	—	19	17 »	0,6 : 1
XX	—	23	24 »	0,65 : 1

plus d'irrégularité de développement entre les divers individus. A ce moment en effet, la plupart des matières de réserve sont utilisées et l'animal se nourrit déjà depuis le stade X. En général nous avons, chaque jour, choisi dans le lot des têtards, ceux qui nous paraissaient les plus avancés dans leur évolution.

I. — DE LA FÉCONDATION A LA GASTRULA

L'œuf, au moment de la fécondation, contient des plaquettes vitellines de toutes les tailles. Les très grandes plaquettes ovales ou oblongues se trouvent exclusivement dans l'une des moitiés de l'œuf correspondant au pôle végétatif, tandis que des plaquettes plus petites, de dimensions variables, remplissent le reste du cytoplasme. On en trouve aussi de petites parmi les grandes.

Pendant la segmentation, cette distribution reste approximativement la même, bien qu'un certain remaniement succède à la formation des sillons. Le pigment aussi est redistribué en partie par ces sillons. Il est très éparpillé dans l'intérieur, mais on peut distinguer des grains même dans les cellules les plus éloignées de la zone d'origine de la pigmentation. Le pôle animal reste cependant la partie la plus colorée. La distribution du pigment est encore plus frappante après les techniques de CAJAL et de DA FANO, où non seulement le pigment mélanique est noirci, mais aussi les prépigments, ce qui est en accord avec certaines observations de VERNE et de MASSON.

Dans la blastula, donc, les couches de petites cellules à la périphérie et au pôle animal, sont bourrées de petites plaquettes vitellines, tandis que les cellules sphériques du centre et celles du pôle végétatif contiennent surtout les grosses plaquettes. La gastrula présente une distribution analogue, et plus tard, dans les jeunes têtards, les grandes plaquettes se rencontrent dans les cellules intestinales, qui conservent très longtemps des réserves devant être utilisées au cours de l'ontogénèse.

Des colorations vitales furent faites au rouge neutre sur

des œufs, des blastula, et des gastrula avec les mêmes résultats que ceux obtenus sur des œufs mûrs non fécondés. Il n'y a rien dans les cellules qui fixe le colorant, sauf le pigment. Dans tous les cas, le pigment est facile à distinguer, aussi bien avant, qu'après coloration vitale, et il n'y a rien d'autre qui se colore. En d'autres termes, le vitellus qui perdait son caractère aqueux pendant la synthèse, reste toujours jusqu'au présent stade, dans un état de condensation et de déshydratation semblable.

Les noyaux présentent des changements dans ces premiers stades ; on rappellera qu'à l'époque de l'ovulation, la membrane nucléaire disparaît au moment de la rupture de la vésicule germinative. Dans l'œuf fécondé, et dans les premiers blastomères, les substances nucléaires ne sont pas séparées du cytoplasme par une membrane. Néanmoins, les plaquettes vitellines n'émigrent pas dans la zone nucléaire. Nous avons pu observer l'apparition d'une membrane nucléaire seulement entre les stades II et III ; les noyaux des premiers blastomères ont toujours été surpris en mitose.

A partir du stade gastrula, nous nous bornerons à étudier certains tissus bien définis, dans lesquels nous suivrons la différenciation qui accompagne la digestion du vitellus. Les cellules que nous passerons en revue seront celles de l'épiderme, les hématies, les muscles striés, les cellules de la chorde dorsale, du foie, du pancréas, du pronephros, et de l'intestin. Puisqu'il existe certains faits comparables dans ces différents cas, nous parlerons du premier plus longuement et nous indiquerons ensuite les différences spécifiques.

1. — CELLULES EPITHÉLIALES

Pour éviter la confusion, nous considérerons les constituants cellulaires séparément dans la description générale et nous reviendrons ensuite sur leurs relations mutuelles.

a) *Vitellus*. — Dans les cellules de la blastula, le cytoplasme est absolument bourré de plaquettes vitellines. Au cours du développement elles diminuent de nombre, premièrement

dans la partie périphérique de la cellule, ensuite dans la région basale, et finalement elles disparaissent complètement. Dans le stade II, les plaquettes ont une distribution à peu près uniforme avec tendance, pour les plus grandes, à s'accumuler à la base de la cellule. Dans le stade IV le vitellus commence déjà à disparaître de la partie périphérique du cytoplasme, laissant un petit espace plein de mitochondries granuleuses et de grains de pigment. Quand l'embryon commence à s'allonger et que la tête se distingue nettement du corps, ces cellules épithéliales, dans tout l'espace compris entre le noyau et l'extérieur, montrent des plaquettes vitellines extrêmement dispersées, tandis que leur base est toujours bourrée de ces éléments. La disparition graduelle du vitellus progresse jusqu'au stade XVI où l'on ne trouve les dernières plaquettes qu'en petit nombre et encore, pas dans toutes les cellules. Par coloration vitale sur le stade suivant on peut montrer des globules sphériques et fluides qui subsistent, après que la forme caractéristique de la plaquette est détruite par la digestion. Ces vésicules apparaissent aussi après fixation au Mann comme des vésicules incolores. Mais elles disparaissent à leur tour au bout de quelques temps et à partir de ce moment, les cellules épithéliales n'ont plus de vitellus (voir fig. 4).

Pour comprendre le rapport entre le vitellus et l'eau contenue dans ces embryons, il faut examiner les résultats des colorations vitales. Nous avons vu en effet que dans la vitellogénèse, la perte de la colorabilité par le rouge neutre était synonyme de déshydratation, et les recherches de PARAT tendent à démontrer que le rouge neutre n'agit que sur des substances fortement hydratées, sur une véritable « phase aqueuse dispersée ». Dans l'œuf mûr, la blastula et la gastrula, les cellules de l'embryon, commencent à se comporter différemment vis-à-vis du rouge neutre. Quelques plaquettes vitellines dans les cellules superficielles se colorent légèrement en rose ; bientôt après, on trouve une couche superficielle rouge sur la surface de la plaquette, alors que le centre devient presque incolore (fig. 29, planche XI) ;

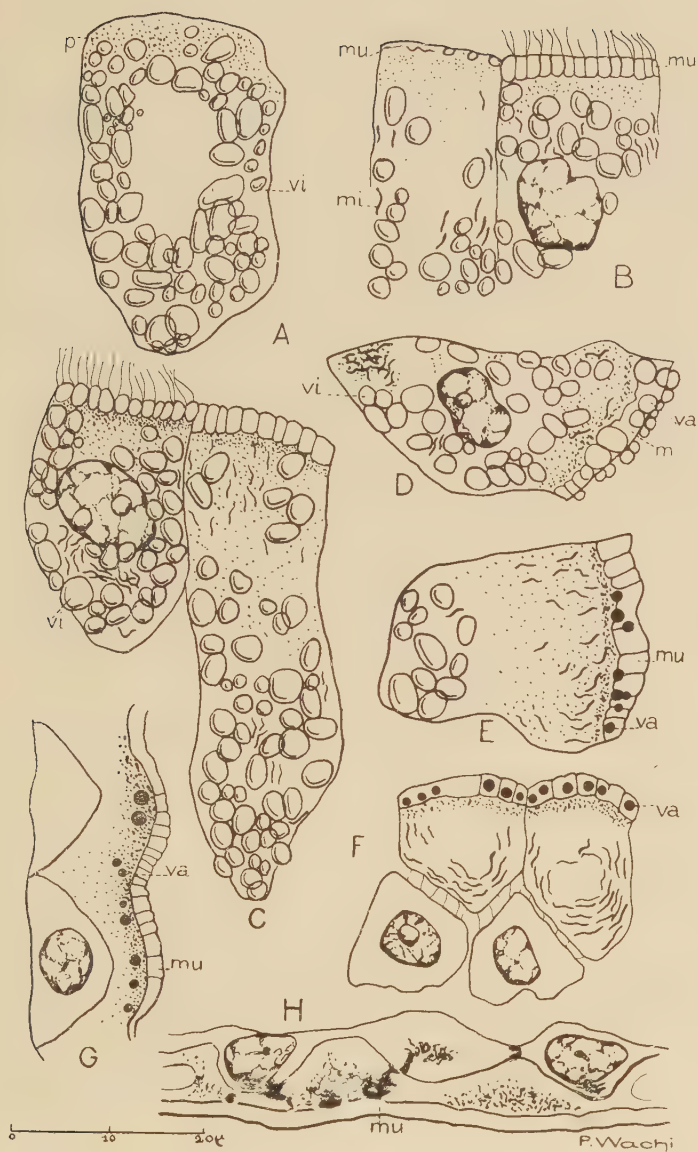


FIG. 5. — Cellules épithéliales en coupes. Dietrich-Parat, Volkonsky. A) Stade 4. Cellule remplie de vitellus, *Vi*, et de pigment, *P*. B) Stade 5. Accumulation de gouttelettes de mucus, *M*, à la surface. C) Stade 6. Couche de mucus dans toutes les cellules. D) Stade 6. La couche de mucus contient des vacuoles fluides (bleu par Volkonsky), dont quelques-unes sont excrétées. E) Stade 13. Vitellus réduit. Vacuoles, *Va*, à contenu condensé (rouge par Volkonsky). F) Stade 14. Vitellus complètement résorbé. Quelques «vacuoles» à contenu condensé, dans la couche muqueuse. G) Stade 17. La couche muqueuse se transforme en cuticule. Cellules épithéliales dégénérées, mais contenant quelques vacuoles. H) Stade 18. Cuticule bien différenciée. Cellules épithéliales complètement dégénérées.

ensuite, le vitellus se colore de nouveau entièrement (fig. 30, planche XI). Cependant cette coloration est beaucoup plus intense que la coloration originale, pâle et fugitive. Il semble qu'on trouve une explication de ces colorations dans le fait que l'eau arrive en quantité minime d'abord, et qu'elle est absorbée par le vitellus. A la suite des transformations chimiques de la plaquette, il y a presque immédiatement de l'eau et des substances en dissolution, et cette phase aqueuse se localise en une couche superficielle sur la plaquette. La couleur plus intense semble due à une plus forte hydratation et à la localisation plus étroite des substances hydratées. Il se produit vraisemblablement à ce stade, à la suite du processus de digestion des plaquettes, une séparation des constituants du vitellus solubles dans l'eau. Puis, l'hydrolyse continue et progresse rapidement aboutissant, au stade VI, à la coloration des plaquettes par le rouge neutre et ce, *in toto* et avec intensité. Ce processus continue jusqu'à l'épuisement du vitellus.

On voit alors que les réactions du rouge neutre sur le vitellus sont, au point de vue physiologique, essentiellement les mêmes, mais dans l'ordre inverse, que celles déjà décrites dans l'œuf ovarien. Le vitellus, bien qu'il soit perméable à l'eau pénétrant partout dans sa substance, n'est pas encore une solution aqueuse susceptible de diffusion dans l'eau pure ; en écrasant ces cellules, les plaquettes vitellines gardent leur forme typique. En d'autres termes, l'emmagasinement de substances nutritives dans l'œuf et l'utilisation ultérieure de ce matériel par l'embryon, représentent d'un certain point de vue, une transformation chimique réversible qui marche d'abord jusqu'à la limite dans un sens, puis dans l'autre, les conditions d'équilibre du cytoplasme ayant été modifiées profondément. Ce changement d'équilibre doit être dû à un mélange de facteurs, changement du milieu et processus physiologiques internes, mis en route par la fécondation.

Il nous paraît intéressant de faire remarquer ici, à la suite de PARAT et ses collaborateurs, combien ces processus

présentent d'analogies avec ceux qu'ont étudiés les botanistes, tout particulièrement GUILLIERMOND, lors de la formation de l'aleurone de la graine, par déshydratation vacuolaire, et lors de l'utilisation de cet aleurone par réhydratation, au cours que la germination.

b) Pigment. — Les cellules épithéliales contiennent du pigment dès le début. Dans le stade blastula il y en a relativement peu en comparaison du volume de la cellule. La plupart de ces grains se trouvent entre les plaquettes vitellines dans la zone superficielle du cytoplasme tout près de la membrane cellulaire. Au fur et à mesure que ces cellules diminuent de taille par mitoses successives et que le vitellus disparaît peu à peu, le pigment devient une enclave de plus en plus importante dans la cellule. Il est toujours visible en rouge après coloration vitale au rouge neutre ; il est brun dans les préparations sans coloration, soit fixées, soit fraîches. Il est imprégné en noir par le nitrate d'argent, et dans ce cas, son abondance semble accrue du fait que le prépigment noircit en même temps que le pigment définitif.

c) Mitochondries. — Nous avons constaté dans l'œuf mûr la présence de mitochondries granuleuses plus nombreuses dans la zone occupée par le pigment. Elles sont de plus en plus visibles pendant la disparition du vitellus. Une relation assez nette semble exister entre les deux éléments. Il n'y a pas sur le vivant, évidence d'une transformation directe du vitellus en mitochondries comme KONOPACKI (1927) l'a vu chez la Grenouille et COGHILL (1915) chez l'Axolotl, mais l'augmentation des mitochondries est en raison inverse de la diminution du vitellus. On peut, avec beaucoup de facilité mettre en évidence les plaquettes vitellines avec le rouge neutre et l'on n'a jamais vu de stades intermédiaires entre ces plaquettes et les mitochondries. Les mitochondries ne sont jamais colorées par le rouge neutre, quoique les deux éléments se colorent en rouge avec la fuchsine acide. Il pourrait y avoir, comme le pense GUTHRIE (1925) une formation des mitochondries par un

processus analogue à une cristallisation de substances en solution saturée, ces substances, dans le cas en question, dérivant du vitellus.

d) *Mucus*. — Le mucus n'est pas visible dans les cellules de la blastula ni de la gastrula. Dans la stade VI, quelques gouttelettes très petites et incolores se forment en dessous de la membrane cellulaire et s'accumulent pour constituer une couche de globules juxtaposés (fig. 5B,C). Dans les cellules ciliées, les cils poussent leurs racines entre les gouttes de mucus ; presque toujours, on peut voir quelques grains de pigment entre les gouttes. La taille des gouttelettes augmente rapidement et reste ensuite sans changement jusqu'au stade XVI. Dès l'apparition de cette substance, il nous a toujours été impossible de la colorer vitalement au rouge neutre. Elle prend sur coupes le mucicarmin qui, on le sait, est un colorant spécifique du mucus. Dans quelques cellules, particulièrement dans les coupes fixées, on observe des images pouvant faire penser à une excrétion du contenu des gouttelettes (fig. 5D).

Dans le stade XVI, il se produit un changement important dans l'apparence générale du mucus. Les gouttelettes se fusionnent entre elles, et même de cellule à cellule, en une couche qui se sépare nettement du cytoplasme sous-jacent par une membrane. Des stries très peu visibles persistent un certain temps, qui indiquent l'ancienne séparation entre les gouttelettes, mais à la fin, le tout forme une couche continue. Celle-ci présente un caractère de réfringence beaucoup plus accusé qu'auparavant. En d'autres termes, cette couche de mucus, produit de sécrétion du cytoplasme des cellules épithéliales, devient *la cuticule* du jeune têtard.

c) *Vacuoles*. — Les plaquettes vitellines, bien qu'on ne puisse les appeler « vacuoles », représentent au moment de leur digestion les premières gouttelettes aqueuses dispersées dans le cytoplasme. A la suite des processus métaboliques se passant dans les cellules qui se différencient, l'état de repos de ces cellules, correspondant à celui de l'œuf mûr,

c'est-à-dire l'état où le cytoplasme est bourré de *vitellus déshydraté* et complètement « saturé » (GUTHRIE), fait place à un état actif où le cytoplasme contient une phase aqueuse assez considérable pour être visible. Ces cellules ne sont pas encore adultes, en ce sens qu'elles n'ont pas atteint leur équilibre définitif, qu'elles sont dans un état transitoire de transformation, correspondant à leur différenciation progressive. En raison de l'origine et de la destinée spéciales des réserves nutritives du vitellus, en particulier de ces cellules, les fluides aqueux normalement localisés au niveau des vacuoles, sont accumulés et concentrés ici, sur et dans les plaquettes vitellines. Sans doute, cette eau est-elle en majeure partie empruntée au milieu externe, mais peut-elle aussi provenir d'une autre source, source interne celle-là, par libération de produits du métabolisme.

Pendant la digestion du vitellus, une autre catégorie de gouttelettes apparaît près de la surface de la cellule. Ce sont de petits globules de taille très uniforme qui se colorent vitalement au rouge neutre. Dans le stade VI, on les observe pour la première fois entre de grosses plaquettes vitellines (fig. 29, planche XI). De là, ils émigrent vers la surface où ils sont bien localisés à partir du stade IX (fig 30, 32, planche XI). Au commencement, ces globules ou vacuoles, sont très fluides comme l'observation suivante le montre : après avoir regardé pendant très longtemps des cellules vivantes, on observe à la fin que les cellules s'altèrent, et absorbent de l'eau en formant à leur surface une grosse hernie claire (fig. 31, planche XI). Avant que cette hernie n'éclate, on peut y distinguer quelques grains de pigment isolés, agités de mouvements browniens, et surtout les vacuoles dont nous venons de parler. Ces vacuoles ne gonflent pas, elles ne subissent aucun changement de taille, de forme, ni de couleur, mais elles se meuvent librement dans la vésicule (fig. 31, planche XI). Finalement, elles touchent la membrane extérieure, la franchissent et disparaissent sur le champ au contact de l'eau ambiante. Cet éclatement ressemble un peu à celui de la vacuole pulsatile

d'un Protozoaire au moment de la décharge. Cette observation prouve que le contenu de ces vacuoles est si fluide qu'il ne résiste pas du tout à la diffusion au contact de l'eau, hors de la cellule. Une telle observation a été faite maintes fois sur le même matériel.

On a essayé l'effet de plusieurs colorants sur ces vacuoles, dans les cellules vivantes. Le virage du rouge neutre indique une réaction ionique au voisinage de la neutralité ou très peu en dessous (pH : 6,8 — 6,9 environ). Elles se colorent en violet avec le sulfate de bleu de Nil tandis que les plaquettes vitellines prennent une couleur bleu intense, et les globules de graisse une couleur rose clair. Cette couleur ne change pas après qu'on a ajouté de l'eau oxygénée sauf dans le cas où il y a un grand excès de ce dernier réactif. Alors, les vacuoles éclatent et disparaissent entièrement. Après une longue coloration au vert Janus, elles se colorent en rose violacé et le mucus en lilas ou rose pâle. Après le bleu de crésyl brillant, elles sont violettes, couleur qui tire au bleu après surcoloration. Après le bleu de méthylène, elles sont violacées mais le colorant est complètement réduit avec rapidité. Si l'on ajoute encore du colorant, on obtient une coloration dans quelques cellules seulement. Toutes ces réactions indiquent que les vacuoles sont à peu près neutres et qu'elles possèdent certaines propriétés réductrices. Elles diffèrent du vacuome définitif de la plupart des cellules adultes par le fait que le vacuome est en général acide et qu'il présente plutôt des propriétés oxydantes (PARAT).

Dans les coupes, les vacuoles sont souvent bleues, par la méthode de VOLKONSKY et, dans les stades plus avancés, rose intense comme le vitellus. Elles se trouvent immédiatement en dessous de la couche muqueuse ou, très souvent, dans cette couche même. Une couche superficielle de ces vacuoles existe aussi longtemps que les cellules épithéliales conservent leur identité, mais dans les têtards à partir du stade XV, elles semblent condenser leur contenu, car elles perdent leur colorabilité *in toto* et on les voit en forme de petits corps plutôt solides, avec des anneaux, des croissants

ou des précipitations granuleuses de rouge neutre sur leur surface (fig 33, planche XI). Avant ce stade, il est bien probable qu'il y a une excrétion des vacuoles, puis qu'elles sont immédiatement remplacées par d'autres vacuoles néoformées aux dépens du vitellus et qui montent à la surface. C'est seulement après la disparition du vitellus qu'on observe la condensation dont nous venons de parler au sein de la dernière génération de vacuoles.

Avant de finir cette description, il faut ajouter quelques mots au sujet de l'effet de la surcoloration par le rouge neutre. Si, après la coloration primaire et normale qui colore les éléments visibles normalement sans coloration, on pousse plus loin l'action du colorant, on obtient la néo-formation de vacuoles près du noyau. On a alors sous les yeux le spectacle de vacuoles anormales, croissant jusqu'au moment où le cytoplasme en est complètement bourré. Certains de ces éléments peuvent même atteindre la taille du noyau. Quand le noyau commence à se colorer (signe de la mort de la cellule), ces gouttes énormes perdent peu à peu leur coloration par diffusion de leur contenu. Dans les vacuoles superficielles normales, la coloration reste élective pendant un temps plus long que dans les autres. On peut produire des gouttes énormes anormales non seulement par surcharge du rouge neutre mais par simple cytolysé de la cellule. En effet, nous avons placé dans du rouge neutre des têtards, en veillant à ce que dans les cellules épithéliales de la queue, les vacuoles superficielles normales et elles seulement, fussent colorées. Nous avons vérifié que le rouge neutre avait pénétré plus profondément, par l'examen des cellules conjonctives sous-jacentes qui se montrèrent effectivement colorées. Or, nous vîmes apparaître au bout d'un certain temps près du noyau, de grosses vacuoles qui correspondaient comme taille et comme localisation à celles que colorait dans l'expérience précédente un excès de rouge neutre.

Nous compléterons ces observations par un examen effectué sur des animaux très spéciaux. Quelques têtards, ayant été laissés pendant plusieurs mois sans nourriture, la

métamorphose n'eut pas lieu au moment normal. Dans les cellules épithéliales de la queue de ces animaux, il existait des groupes de vacuoles de taille uniforme et invariable, bien polarisées au pôle extérieur du noyau. Cette disposition rappelait celle que présente le vacuome d'autres cellules épithéliales décrites par PARAT et BOURDIN (1925). Les « vacuoles » superficielles étaient condensées en des grains réellement solides et sur une ou deux d'entre elles seulement, il existait des précipités de rouge neutre. On peut donc conclure que le vacuome ne se forme pas de la même façon dans les cellules à métamorphose normale et dans celles dont le développement se trouve arrêté. Le sort des cellules modifie donc leur morphologie et leur physiologie. Normalement, le vacuome est représenté par le vitellus, et ensuite par les vacuoles superficielles dérivant de celui-ci. La somme de ces éléments contient toute l'eau de la phase aqueuse dispersée et par conséquent visible, de la cellule ; ils remplissent donc au moins une des conditions du vacuome. Au contraire, anormalement, les vacuoles superficielles ne sont plus hydratées et l'eau visible en ces cellules, se trouve accumulée dans les vacuoles juxtanucléaires. La sensibilité de cette zone et sa tendance à former des vacuoles, sont démontrées par la facilité avec laquelle la surcoloration des cellules normales produit des artefacts en cet endroit.

Les imprégnations au nitrate d'argent sont très difficiles à exécuter sur ce matériel. Cependant nous avons pu voir dans certains cas des cellules peu pigmentées, où les vacuoles étaient imprégnées et distinctes des masses de pigment. On peut trouver ces imprégnations dans les coupes (fig. 34, 35, 36, planche XI) et aussi à la surface de queues traitées par les techniques golgiennes et montées *in toto* dans le baume (fig. 6B). Dans les stades très avancés, des précipités d'argent en forme de croissants (dictyosomes) correspondent entièrement à la localisation du rouge neutre ; seulement, dans les pièces fixées, le contenu de la vacuole s'est rétracté et détaché du cytoplasme en laissant un petit espace clair comme dans la fig. 36, planche XI. Un autre aspect d'imprégnation est

indiqué dans la fig. 6 (empruntée à PARAT), *B*, où toutes les vacuoles autour des grains condensés sont fortement noircies, et au milieu desquelles se trouvent les grains, imprégnés dans quelques cas seulement. On a ainsi, une image d'appareil de Golgi absolument classique. L'aspect après DIETRICH-PARAT, et coloration de VOLKONSKY, fig. 6*A*, démontre le caractère de condensation de ces éléments, qui sont le plus souvent anguleux, presque cristalloïdes, et souvent colorés en rouge par la rubine. Ce caractère les différencie de l'état antérieur, beaucoup plus fluide, représenté

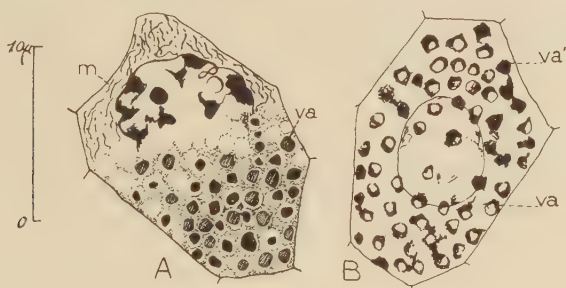


FIG. 6. — (Empruntée à Maurice Parat). Cellules épithéliales de la queue. *A*) Dietrich-Parat, Volkonsky. Coupe oblique. Vacuoles, *Va*, avec leur contenu condensé qui se colore en rouge. Mitochondries, *M*. *B*) Cajal sans coloration. Cellule de la queue entière vue de surface. Vacuole seule imprégnée, *Va*, le grain étant incolore ; vacuole, et son contenu condensé tous deux, imprégnés, *Va'*.

dans la fig. 32, planche XI. A cet état, en effet, ils ne se colorent pas par la rubine, ils remplissent toute la vacuole d'un coagulum coloré en bleu par le Volkonsky. Les plaquettes de vitellus, quoique colorables *in toto* par le rouge neutre, ne sont jamais imprégnées à l'argent mais il y a, lors de la première digestion, un dépôt superficiel d'argent, en forme de croissant sur la plupart des plaquettes vitellines. La difficulté d'obtenir des imprégnations métalliques aux stades où la coloration vitale est au contraire aisée à réussir, tient peut-être à la concentration des substances vitellines.

f) Graisses. — La queue offre un matériel excellent pour étudier le métabolisme des graisses dans les différents

stades. On coupe les queues des animaux fixés au formol et on les colore *in toto* ; le Soudan III colore effectivement toute la graisse en rouge brique.

La fixation par l'acide osmique, suivie ou non d'un traitement par l'alcool donne des résultats encore plus beaux. La réaction de Mulon sur ces graisses (une couleur primaire grise après l'acide osmique et secondaire noire après avoir ajouté de l'alcool) montre qu'elles sont en grande partie constituées par des graisses saturées. On peut les colorer par le rouge neutre (non-vitalement) et le sulfate de bleu de Nil. Sur des queues vivantes, le sulfate de bleu de Nil donne aux graisses une coloration rose très nette et une coloration bleu foncé aux plaquettes vitellines. Tous les faits observés sur les queues entières peuvent être vérifiés dans les coupes. Les méthodes pour les acides gras et pour les savons donnent des résultats négatifs comme dans l'ovogénèse.

En comparant ces différentes techniques, on voit que le cycle des graisses devient intéressant à partir du stade VII. Auparavant, il n'y a pas beaucoup de changement dans la distribution, depuis l'œuf mûr. Il y a seulement tendance à une répartition plus régulière, par suite de la segmentation. Dans le stade VII, les gouttelettes de graisses dans les cellules en question deviennent plus fluides et elles sont facilement déformées par la pression des plaquettes vitellines. A partir de ce stade, les gouttelettes graisseuses croissent en taille et en nombre jusqu'au stade XII (fig. 7D) à partir duquel on les voit diminuer. Dans les stades XI et XII, des relations intimes entre le vitellus et la graisse sont très fréquentes (fig. 7F). Quelquefois, le vitellus donne naissance aux graisses qui semblent sourdre des plaquettes vitellines sous forme de petites gouttelettes. Quelquefois, une séparation des substances aqueuses et des substances graisseuses est visible dans la plaquette avant qu'il y ait une séparation morphologique. Pendant l'évolution des graisses, le vitellus diminue graduellement. Dans le stade XIII, les quantités de graisses et de vitellus dans les cellules sont sensiblement égales. Ensuite, le vitellus diminue rapidement. Dans le stade XVII

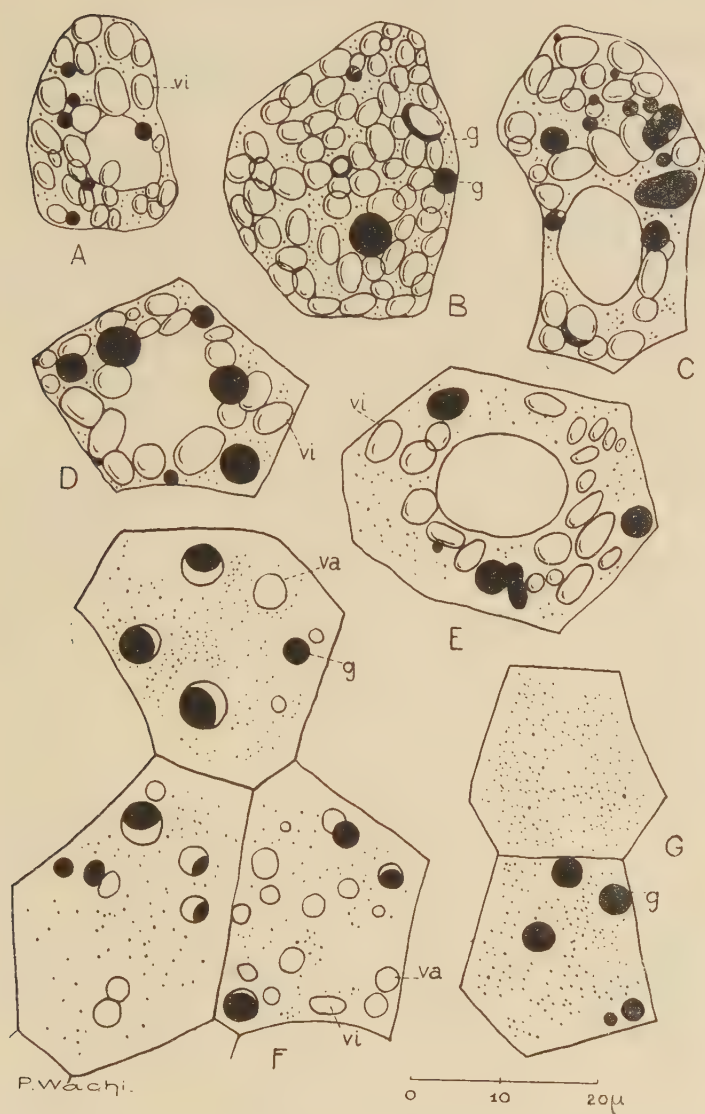


FIG. 7. — Cellules épithéliales de la queue vues de face. Formol, Acide osmique. A) Stade 9, B) stade 10, C) stade 12, et D) stade 13, diminution du vitellus et augmentation des graisses. E) Stade 14. Diminution continue du vitellus et début de la diminution des graisses. F) Stade 17. Vitellus complètement digéré en gouttelettes fluides. Dernière formation des graisses. G) Stade 18. Vitellus résorbé ; graisses réduites ou absentes.

chaque cellule contient quelques grosses gouttes de graisse alors que le vitellus a presque disparu (fig. 7G). S'il y a des restes de vitellus dans quelques cellules, c'est sous la forme de gouttelettes très fluides, très digérées. Dans le stade XVIII il n'y a plus de vitellus dans les cellules épithéliales ordinaires, et la graisse est très réduite. Dans le stade suivant, la graisse aussi est absente. La disparition des gouttelettes de graisse se produit d'abord dans les cellules situées près des capillaires sanguins, et les dernières cellules qui perdent leur graisse sont celles situées au bord de la queue. Aussi pensons-nous que la plupart de ces graisses sont transportées ailleurs et non pas utilisées sur place par les cellules.

g) *Glycogène*. — On rappellera que dans l'œuf mûr il y avait beaucoup de glycogène entre les plaquettes de vitellus. Au stade III il y a une concentration de ce matériel dans les cellules superficielles. Souvent il s'accumule autour du noyau. Au stade VI, le glycogène se trouve en grande quantité diffusé dans le cytoplasme. Cette même disposition se retrouve dans les stades successifs VII, VIII, IX, mais s'accompagne d'une diminution lente.

Cependant, à tous les stades, il y a plus de glycogène dans l'épithélium que dans tout autre tissu du têtard. Les stades X et XI montrent encore une diminution. Le tissu qui en renferme le plus est l'épithélium branchial. L'épithélium du stade XV contient très peu de glycogène, celui du stade XVII en contient seulement des traces qui ont complètement disparu au stade XVIII. Cette disparition du glycogène dans l'épithélium des têtards à partir du stade X est parallèle à une augmentation de cette réserve dans les muscles et le foie, comme nous le verrons plus tard.

h) *Résumé*. — Une vue générale de ces faits détaillés nous indique que les cellules absorbent de l'eau au cours du processus de digestion du vitellus. Cette absorption d'eau a été étudiée d'une façon globale par DAVENPORT (1897) SCHAPER (1902) et d'autres, chez des espèces voisines. La Grenouille, par exemple, montre une courbe d'absorption

d'eau, qui, après un palier correspondant à la segmentation (vitellus incolorable vitalement) monte brusquement au moment de l'éclosion et pendant les huit jours qui suivent. Il faut ici, tenir compte du fait que la Grenouille subit un développement plus lent que le Discoglosse. On voit, alors, une correspondance nette entre l'hydratation du vitellus observée cytologiquement et la courbe d'absorption d'eau déterminée chimiquement. Une localisation semblable de l'eau absorbée par les embryons fut observée par PARAT et par PARAT et PARAT dans les travaux déjà cités.

La digestion du vitellus donne aussi naissance à des graisses colorées vitalement au bleu de Nil, mais pas au rouge neutre, qui sont ensuite transportées ailleurs dans le corps, et à des protéiques et des lipoïdes qui sont en partie sans doute utilisés dans la formation de mitochondries quoiqu'on ne puisse observer aucune transformation directe du vitellus en mitochondries. KONOPACKI (1927) chez la Grenouille, observe, au contraire, une telle transformation directe. Dans ses figures on remarque à la surface des plaquettes vitellines une séparation de corps solides qui deviennent des filaments mitochondriaux. Nous avons été incapable de retrouver un phénomène semblable chez le Discoglosse. KONOPACKI et KONOPACKA (1926) rapprochent ces observations, faites sur des pièces fixées, de celles de MÖLLENDORFF faites sur le vivant après coloration au rouge neutre. En effet, MÖLLENDORFF décrit chez la Grenouille la formation de croissants et de « granula » colorés fortement en rouge, aux dépens des plaquettes vitellines, qui restent ensuite incolores. Cette observation a donc été faite au moment de la première digestion du vitellus. KONOPACKI et KONOPACKA pensent que ces croissants et ces granula sont lipoïdiques ; or, MÖLLENDORFF n'admet justement pas leur nature lipoïdique. En outre, GRAEPER, chez le Poulet, observe des faits semblables, et il croit que ces grains constituent un véritable intermédiaire entre le vitellus mort et les albumines cellulaires vivantes. Pour notre part, nous avons vu, chez le Discoglosse, cette première séparation de vacuoles, et non

pas de « granula », au niveau des plaquettes vitellines (fig. 29, planche XI) ; ces vacuoles ne contiennent ni lipoïdes ni glycogène, mais, d'accord avec MÖLLENDORFF et GRAEPER, nous pensons qu'elles renferment des substances protéiques en solution aqueuse.

Pendant ces changements, des gouttelettes de mucus se forment et s'accumulent pour donner la cuticule. De petites vacuoles aqueuses se séparent du vitellus et montent à la surface où elles restent jusqu'à la mort de la cellule. Il semble que les premières vacuoles soient expulsées et que d'autres montent pour prendre la place des premières, qu'enfin c'est la dernière génération qui subsiste. Leur caractère fluide change peu à peu et elles deviennent des grains condensés au fur et à mesure que les cellules vieillissent.

Par les méthodes chimiques, FAURÉ-FRÉMIET et DU VIVIER DE STREEL ont observé chez la Grenouille, une diminution des matières sèches pendant le développement, jusqu'à l'éclosion. En poids, la plus grande perte se chiffre parmi les protéiques, ensuite les lipoïdes et finalement le glycogène. NEEDHAM (1927) chez le même animal, trouve les mêmes rapports généraux quoique considérant les hydrates de carbone d'une façon globale, il pense que la diminution de glycogène vue par FAURÉ-FRÉMIET correspond plutôt à une transformation qu'à une disparition. NEEDHAM, en comparant le métabolisme des têtards avec celui des embryons de Poulet, émet une hypothèse séduisante. Pour lui, si les larves aquatiques utilisent plus de leurs matières protéiques (Grenouille : 70, 7%) que les larves terrestres (Poulet : 6%), c'est parce que dans le milieu aquatique l'excrétion des déchets autres que l'eau et le CO² est plus facile. Or, nous avons remarqué l'accumulation et l'excrétion des petites vacuoles superficielles, dans les cellules épithéliales, pendant la digestion du vitellus. C'est peut-être là, le mécanisme de l'excrétion des déchets du métabolisme protéique dans les premiers stades.

Les différents auteurs qui ont étudié chimiquement le métabolisme des graisses, depuis l'œuf jusqu'à l'éclosion

ont publié des résultats très différents. PARNAS et KRASINSKA (1921) et BIALASZEWICZ et MINC (1921) n'ont trouvé, chez la Grenouille, aucune diminution des graisses avant l'éclosion. FAURÉ-FRÉMIET et DRAGOIU (1927) ont trouvé une diminution du poids sec de l'œuf jusqu'à l'éclosion de 17,3% dont la distribution est la suivante : Substances protéiques 7,6%, Glycogène 3,2%, Graisse 6,5%. MC CLENDON (1915) chez un autre Batracien, *Diemyctilus*, indique au contraire, une augmentation du pourcentage des graisses entre ces deux stades, le poids sec total de l'embryon restant d'ailleurs à peu près constant. MC CLENDON en déduit que l'augmentation des graisses doit être due à une transformation du vitellus.

En regard de ces résultats contradictoires, la cytologie apporte des faits probants. Nous avons vu des gouttelettes graisseuses, morphologiquement représentées, faire issue des plaquettes vitellines en quantité plus considérable qu'elles n'y étaient entrées au cours de la vitellogenèse. Il faut donc conclure dans le sens de MC CLENDON à une transformation de graisses aux dépens du vitellus. Le poids de ces graisses ainsi synthétisées devrait intervenir au plus haut chef dans les chiffres des chimistes qui sont justement toujours globaux, ne tiennent pas compte de ces synthèses et peuvent par conséquent induire en erreur sur la quantité exacte de graisses brûlées. L'examen cytologique nous oblige de conclure que la diminution apparente déduite de leurs chiffres, ne correspond pas toujours à la diminution réelle.

2. Hématies

L'évolution des cellules sanguines entre le stade grandes cellules bourrées de vitellus jusqu'au stade hématies définitives sans vitellus, montre un certain parallélisme entre cette évolution et celle des cellules épithéliales. Les plaquettes de vitellus en train de se digérer se colorent au rouge neutre tandis que les gouttelettes de graisse entre les plaquettes sont incolores ou légèrement jaunes. Il y a nettement augmentation de graisses en même temps que le vitellus diminue.

On peut voir ces changements très nets par la série des dessins (fig. 8). Pendant la digestion du vitellus, il y a formation des mitochondries qui apparaissent dans les espaces libres du cytoplasme après que les plaquettes vitel-

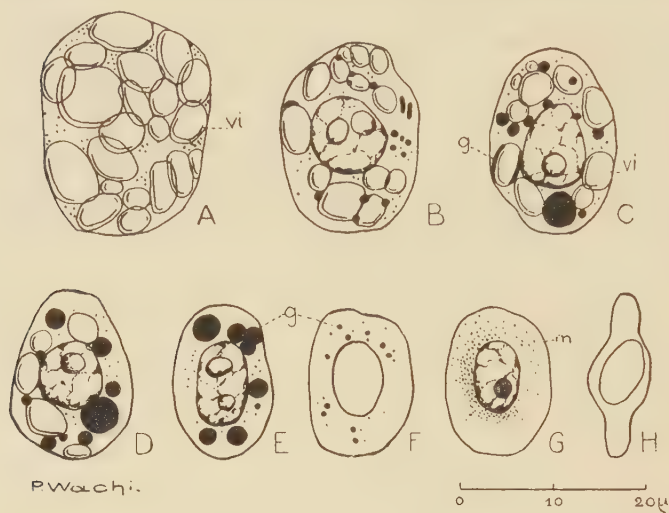


FIG. 8. — Hématies. *A-F*, Formol, Soudan III. Disparition du vitellus, et augmentation des graisses, puis leur diminution en *F*. *A*) Stade 10 *B*) Stade 11. *C*) Stade 12. *D*) Stade 13. *E*) Stade 13. *F*) Stade 18. *G* et *H*) Deux cellules de stade 18, Dietrich-Parat, Altmann, montrant, en *G* les mitochondries autour du noyau, et en *H* le cytoplasme homogène et fortement fuchsinophile.

lines et les globules graisseux ont complètement disparu ; on observe de plus, deux ou trois vacuoles colorables au rouge neutre à chaque pôle du noyau, mais cet état ne dure pas. A la fin de l'érythropoïèse, le cytoplasme perd toute structure visible et devient fortement fuchsinophile.

3. *Muscles Striés*

Le développement des muscles striés par différenciation du myotome est particulièrement intéressant. Les mitochondries y jouent un rôle extrêmement particulier.

Comme il a déjà été observé dans les cellules épithéliales, le vitellus se digère en même temps qu'il absorbe de l'eau,

aussi les plaquettes vitellines deviennent-elles colorables ; par le rouge neutre. La disparition graduelle du vitellus laisse place à un cytoplasme où l'on trouve d'abord beaucoup de graisse et de mitochondries, celles-ci augmentant de nombre alors que la graisse diminue. Pendant ce temps, les mitochondries changent leur orientation, pour former les myofibrilles.

Au début, les mitochondries existent sous forme de granules répartis entre les plaquettes de vitellus. Dans la région voisine du noyau, ces grains ont tendance à s'aligner en séries (fig. 10, planche X). A mesure que la différenciation se produit, ces dernières deviennent plus longues et plus nombreuses ; elles sont exactement parallèles les unes aux autres (fig. 11 et 12, planche X). Les grains augmentent de taille, pour donner finalement naissance aux disques Q des fibrilles. Les fibrilles sont bien différenciées alors qu'il existe encore beaucoup de vitellus. Lorsque le vitellus est complètement digéré et absorbé, ainsi que la graisse, la relation intime entre les mitochondries et les myofibrilles existe toujours dans les endroits où les fibrilles continuent à se former. Les mitochondries ne sont plus granuleuses mais nettement en forme de bâtonnets et de filaments. Elles s'alignent toujours de la même façon pour former des myofibrilles. A l'extrémité de ces fibrilles elles forment comme des effilochures, et l'on passe graduellement de l'orientation irrégulière du cytoplasme non-différencié, ou sarcoplasme, à l'orientation régulière du myoplasme (fig. 13, planche X).

La composition chimique des fibrilles diffère de celle des mitochondries en ce qui concerne les lipoïdes. Après les techniques de DIETRICH et de CIACCO les mitochondries sont positives jusqu'au moment de leur première orientation en séries. A partir de ce moment cette réaction change : dans les muscles en état de contraction quand le disque Q est séparé en deux parties, les extrémités adjacentes aux disques clairs montrent nettement une accumulation de lipoïdes, absente dans les stades de repos.

Les mitochondries, dans les espaces interfibrillaires, sont

en forme de courts bâtonnets et n'ont pas la forme filamenteuse commune dans les muscles lisses par exemple. On pourrait penser que cela est dû au cloisonnement du sarcoplasme interfibrillaire par les stries d'Amici ; puisque la taille et la forme des mitochondries, sans orientation dans le sarcoplasme non différencié, sont exactement homologues à celles du myoplasme, nous pensons qu'une telle limitation mécanique n'est pas nécessaire pour expliquer cette taille et cette forme.

On remarque que la libération des graisses par digestion du vitellus se produit d'abord près du noyau, et que c'est ensuite près du noyau qu'on perçoit les premiers rangs de mitochondries qui formeront les fibrilles (fig. 10, planche X). On est amené à conclure que dans les cellules des myotomes la plus grande activité règne au moins au début de la différenciation, dans la région des échanges nucléoplasmiques les plus intenses.

L'origine des myofibrilles à partir des chondriosomes est connue déjà depuis longtemps. Les travaux de MEVES (1909) et de DUESBERG (1910) l'ont démontrée d'une façon nette. OLIVO (1925) les a confirmés plus récemment. PRENANT a résumé tous les travaux jusqu'à 1911 sur l'origine des myofibrilles. En comparant les résultats obtenus chez *Discoglossus* avec ceux fournis par d'autres animaux, nous trouvons à la base un fait général semblable. Cependant, ici, l'alignement des mitochondries semble être tout à fait indépendant de l'existence d'une fibre préexistante dans le cytoplasme. NAVILLE (1922) dans une étude sur les muscles chez *Rana temporaria*, décrit à l'origine, l'existence d'une mince fibrille dans le cytoplasme, sans aucune indication de disques sombres et de disques clairs. C'est dans la suite qu'apparaissent les striations. Comme l'indiquent nos figures, une telle fibrille n'entre pas en jeu pour assurer l'alignement des mitochondries chez le *Discoglosse*. Nous trouvons aussi les premières fibrilles près du noyau tandis qu'HOSSELET chez les Insectes, les trouve à la périphérie des cellules.

Une différenciation des myofibrilles et leur transformation

en chondriocontes ont été observées par G. LEVI (1924) dans les cultures in vitro de tissus musculaires de Poulet. Il affirme que les myofibrilles « sont des chondriocontes qui ont acquis une orientation particulière et dont les propriétés chimiques se sont modifiées ».

Après que la digestion complète du vitellus et la résorption ou le transport des graisses sont accomplies, une étude du sarcoplasme montre les constituants définitifs. Les mitochondries en filaments assez courts, sans orientation se montrent particulièrement bien colorées par la technique d'Altmann ou ses dérivés ; l'examen vital avec ou sans vert Janus les démontre parfaitement. La coloration vitale au rouge neutre décèle des vacuoles, quelquefois en groupes près du noyau, mais le plus souvent dispersées (fig. 15, 16, planche X). Dans le cytoplasme entre les fibrilles, on en trouve également mais elles affectent naturellement une disposition sériée. Ces vacuoles sont faciles à imprégner par l'argent ou l'osmium. Très souvent, le contenu noir s'est rétracté et détaché du cytoplasme à la suite de la fixation (fig. 16, planche X). Sur le vivant, sans aucune coloration, les vacuoles et les mitochondries sont visibles. Il n'y a rien chez le Discoglosse qui représente un appareil de Golgi en forme de réseau, ni sur le vivant ni sur les pièces imprégnées, comme BOWEN (1926) et d'autres disent l'avoir vu chez d'autres espèces (PARAT et HIBBARD, 1928).

Du glycogène apparaît dans les muscles à partir du stade VIII. Il augmente jusqu'à la fin de la différenciation et constitue un élément chimique définitif des muscles. Il se trouve dans le sarcoplasme interfibrillaire et surtout dans le sarcoplasme non différencié, sous forme de plages énormes (fig. 17, planche X) et non pas sous forme de petits grains comme KONOPACKI et KONOPACKA l'ont figuré chez la Grenouille, aspect dû, pensons-nous, à une fixation insuffisante. En effet, NOËL (1922) dans les cellules hépatiques aussi bien que Guilliermond chez les champignons démontrent du glycogène en forme de plages diffuses imbibant les trabécules du cytoplasme.

4. *Chorde Dorsale*

Quand les cellules de la chorde dorsale commencent à se différencier dans la neurula, elles ressemblent aux cellules des myotomes, longues, étroites, serrées les unes contre les autres, et bourrées de vitellus (fig. 18, planche XI). Très tôt, de petites vacuoles claires apparaissent qui ne sont pas colorables vitalement par le rouge neutre dans l'animal entier, probablement parce que la pénétration du colorant est insuffisante (fig. 19, planche XI). En effet, ces vacuoles deviennent colorables plus tard, par exemple au stade XI, en particulier dans la région postérieure de la chorde, mais il est évident qu'à ce stade, la perméabilité des tissus environnants est considérablement accrue. Au même stade, ces vacuoles apparaissent imprégnées par l'osmium. Ces vacuoles aussi bien que le vitellus des mêmes cellules, peuvent être colorées postvitalement si l'on dissèque l'animal et si l'on place la chorde entière dans du rouge neutre en solution physiologique.

Les plaquettes de vitellus, comme il est à prévoir, se colorent vitalement lors de la digestion. Les vacuoles augmentent progressivement et se réunissent entre elles de telle sorte que le cytoplasme qui contient des plaquettes de vitellus en nombre réduit, des mitochondries et du pigment dispersé, est repoussé et comprimé sur le côté (fig. 20, 21, planche XI). A la fin, il n'y a que des membranes délicates qui séparent les grosses vacuoles les unes des autres. Les noyaux sont repoussés, en général vers la surface de la chorde où ils se montrent entourés d'une petite aire de cytoplasme. (fig. 22, planche XI). Au stade XVIII le vitellus est complètement digéré et il ne reste dans le cytoplasme que des mitochondries et de petites vacuoles sphériques, colorables vitalement, résidu de la digestion du vitellus. Ces petites vacuoles sont localisées à un pôle du noyau comme l'indique la fig. 23, planche XI.

Les vacuoles énormes, turgescents, qui forment la substance de la chorde, sont maintenant complètement séparées

du cytoplasme, lieu de leur naissance, de sorte qu'elles représentent une substance intercellulaire dérivée d'une sorte d'*exoplasme* au sens de STUDNIČKA, au lieu d'un véritable constituant cytoplasmique. Les vacuoles du cytoplasme proprement dit, de l'*endoplasme* (selon la terminologie de STUDNIČKA, 1903) sont le résultat de la digestion du vitellus, alors qu'au moment de la formation des grosses vacuoles, le vitellus était encore à peine attaqué.

5. Pancréas

La pancréas apparaît sous forme d'un diverticule du tube digestif aux environs du stade IX. Ses cellules sont, comme toute cellule à ce moment, pleines de vitellus et de mitochondries granuleuses. Ce vitellus apparaît assez hydraté dès la première différenciation de cet organe, et fixe le rouge neutre. Alors que le cytoplasme est encore encombré de beaucoup de vitellus, les premiers grains de sécrétion apparaissent dans les cellules acineuses (fig. 9A). Ce fait est très net sur des préparations colorées au Volkonsky, où le vitellus est rouge brillant, et les grains de sécrétion mauves ou violets. Au fur et à mesure que se digère le vitellus, les grains de sécrétion augmentent. Peu à peu le chondriome, jusque là granuleux, tend à devenir filamenteux. Le vitellus en se digérant, libère ici aussi des gouttelettes de graisse, roses par le bleu de nil sur le frais, et qui persistent, alors que toute trace du vitellus a disparu, mais ces gouttelettes disparaissent à leur tour plus tard.

Finalement, les cellules pancréatiques apparaissent au stade XIV telles qu'elles sont représentées par la fig. 9C, c'est-à-dire, avec des grains de sécrétion, des mitochondries et au pôle distal du noyau une zone libre après fixation au Dietrich-Parat. Dans cette zone, on peut facilement montrer, par coloration au rouge neutre, un groupe de vacuoles (fig. 9D). Elles représentent les restes de la phase aqueuse qui était, auparavant, liée au vitellus. Des imprégnations à l'osmium les montrent en noir comme sur la fig. 9F, ou bien les mitochondries voisines peuvent être noircies en



FIG. 9. — Pancréas, cellules acineuses. *A*) Stade 13. Dietrich-Parat, Volkonsky. Première apparition des grains de sécrétion, *S*. Vitellus *Vi*. *B*) Stade 14. Helly Altmann. Vitellus diminué, sécrétion augmentée. *C*) Stade 14. Dietrich-Parat, Volkonsky. Vitellus encore plus diminué, mitochondries en filaments, *M*, laissant une zone libre, *Z*, au pôle distal du noyau. *D*) Coloration vitale au rouge neutre. Grains de sécrétion, *S*; vacuoles en rouge, *Va*; graisses, *G*. *E*) Surcoloration au rouge neutre. Augmentation anormale des vacuoles, *Va*. *F*) Imprégnation des vacuoles, *Va* à l'osmium. Graisses, *G*. *G*) Imprégnation à l'osmium de « l'appareil de Golgi » classique; des mitochondries ou des lipoides + des vacuoles, *M* + *Va*. *D* à *G*, stade 16.

même temps pour former un réseau comme sur la fig. 9G. Une surcoloration au rouge neutre peut déterminer une telle augmentation du nombre des vacuoles, que la cellule apparaît bourrée de vacuoles jusqu'à la base (fig. 9E).

Dans les îlots, entre les acini, l'histoire du vitellus et de la graisse est semblable à celle de ces éléments dans les cellules acineuses. A la fin, la distribution des mitochondries et des vacuoles est telle que l'indique la fig. 10A, B, C et D, qui représentent respectivement, une fixation au Dietrich-Parat et coloration au Volkonsky, une coloration vitale au rouge neutre, et une imprégnation au Kolatchev.

6. Foie

Le foie apparaît en même temps que le pancréas. La première digestion du vitellus y est semblable à celle du pancréas. Comme ailleurs, la graisse se forme aux dépens du vitellus et elle est en partie utilisée par les cellules parce qu'elle diminue, sans jamais disparaître complètement (fig. 25, planche XI). Le vitellus disparaît tout à fait, et à ce

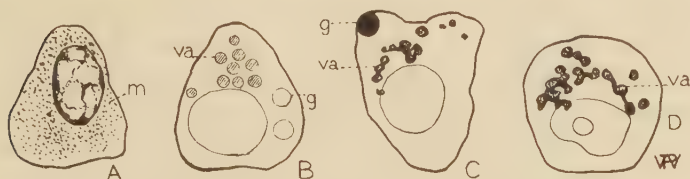


FIG. 10. — Pancréas, cellules des îlots, stade 16. A) Dietrich-Parat, Volkonsky. Cytoplasme plein de mitochondries granuleuses. B) Coloration vitale : Vacuoles, *Va*, en rouge ; graisse, *G*, incolore. C et D), Imprégnations à l'osmium. Graisse, *G*, très noir ; vacuoles, *Va*, montrant une tendance à se réunir.

moment, une coloration vitale au rouge neutre démontre l'existence de petites vacuoles dispersées ; le bleu de Nil met en évidence quelques gouttelettes de graisse. Aussitôt après, cette graisse commence à devenir plus abondante (fig. 26, planche XI). Or, il est à remarquer qu'en même temps, elle disparaît presque complètement dans les autres

tissus du têtard. Finalement, ces cellules sont remplies de grosses gouttes de graisse comme l'indiquent les fig. 26 et 27, planche XI. Dans ce cas-ci, la fixation a permis aux graisses de diffuser et il reste de grandes lacunes. On peut voir dans le cytoplasme, s'insinuant entre les globules de graisse, des mitochondries en courts filaments. Le foie est l'organe du corps qui contient à ces stades les réserves graisseuses et ce n'est qu'au stade XX qu'apparaît le *corps gras*. Toutes ces graisses donnent une coloration admirable en rose avec le bleu de Nil.

Le glycogène que nous avons vu partout mais surtout localisé dans les cellules épithéliales au début du développement, et qui s'est ensuite montré dans les muscles, apparaît en très petite quantité dans le foie aux environs du stade XVI. Il augmente graduellement, et au stade XIV la coloration du foie par les colorants du glycogène est très nette. Au stade XX le cytoplasme des cellules hépatiques est plein de glycogène diffus (fig. 28, planche XI).

7. *Pronephros*

Dans cet organe la digestion du vitellus est nettement parallèle à la formation de grandes quantités de mitochondries. S'il existe un passage morphologique des plaquettes vitellines aux mitochondries il devrait être surtout évident ici. Mais ce n'est pas le cas, car les mitochondries se forment toujours indépendamment. Il est impossible de constater si les mitochondries « cristallisent » pour ainsi dire à partir du cytoplasme homogène ou si elles se forment par accroissement et division d'éléments préexistants. En tous cas, elles augmentent de nombre et sur le vivant nous n'avons jamais pu voir une formation de mitochondries à partir des plaquettes de vitellus comme KONOPACKI l'affirme. Dans les cellules des canalicules urinaires, ces mitochondries forment les bâtonnets de Heidenhain. La fig. 11D montre la formation de ces éléments. Dans les cellules du néphrostome et dans celles de l'uretère primaire, les mitochondries sont moins nombreuses, sous forme de grains répartis partout, ou de

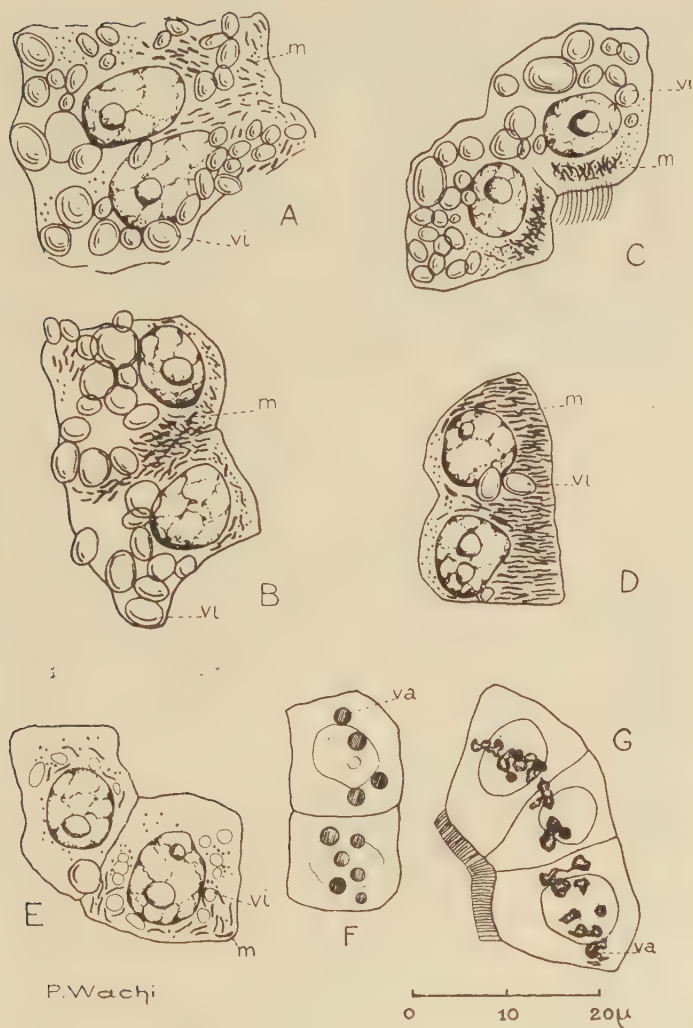


FIG. 11. — Pronephros. *A*) Stade 10. Cellule du canalicule urinaire. Digestion du vitellus et formation des mitochondries. *B*) Stade 12. Cellule du canalicule urinaire. Le vitellus diminue, les mitochondries augmentent. *C*) Stade 11. Cellule du nephrostome dans le même état. *D*) Stade 14. Cellule du canalicule urinaire avec bâtonnets de Heidenhain, *M*. *E*) Stade 14, cellule de l'uretère primaire. Vitellus réduit, *Vi*; mitochondries, *M*. *A-E*, Dietrich-Parat, Volkonsky. *F*) Stade 16. Cellule de l'uretère primaire. Coloration vitale des vacuoles équatoriales. *G*) Stade 16. Imprégnation à l'osmium des vacuoles équatoriales, *Va*, (appareil de Golgi).

filaments sinueux (fig. 11E). Les vacuoles qui persistent après la digestion du vitellus dans les cellules sans bâtonnets, s'accumulent autour du noyau, dans une zone équatoriale. En comparant la coloration vitale avec les imprégnations à l'osmium (fig. 11F et 11G) on voit qu'il s'agit des mêmes éléments, bien que déformés et souvent anastomosés par suite de la fixation (appareil de Golgi). La sensibilité de cette zone est en effet, très apparente sur le vivant : les cellules s'y surchargent facilement de rouge neutre, ou, si elles n'ont pas accès au colorant, manifestent des altérations comme par exemple un gonflement des vacuoles.

8. *Cellules Intestinales*

Le début de l'évolution de ces cellules est semblable à celui des cellules déjà décrites. Seulement, les plaquettes vitellines qu'on trouve ici, sont plus grandes. Ce sont les plaquettes vitellines qu'on a rencontrées au pôle végétatif de l'œuf. Ces plaquettes vitellines disparaissent peu à peu par digestion ; de la graisse se forme, augmente, et disparaît. A partir du moment où les têtards commencent à se nourrir, la structure cytologique des cellules intestinales se complique par suite de l'entrée en jeu de processus d'absorption. On observe par exemple, des lipoïdes accumulés vers la surface dans certains cas, alors qu'ils sont absents dans d'autres. Il y a aussi des accumulations de graisse qui ne sont pas toujours équivalentes. Si on laisse de côté ces quelques différences, on constate néanmoins une certaine évolution fondamentale qui apparaît dans toutes les cellules. Le vitellus laisse derrière lui, à l'endroit où il a subsisté le plus longtemps (fig. 12 B. E) c'est-à-dire, entre la couche superficielle des mitochondries et des lipoïdes d'une part, et la zone supra-nucléaire souvent pleine de gouttes de graisse d'autre part, des vacuoles colorables vitalemt au rouge neutre (fig. 12G). Ces vacuoles, comme c'est la règle dans maint autre cas, sont noircies par l'osmium et l'argent (dictyosomes, appareil de Golgi, fig. 12F).

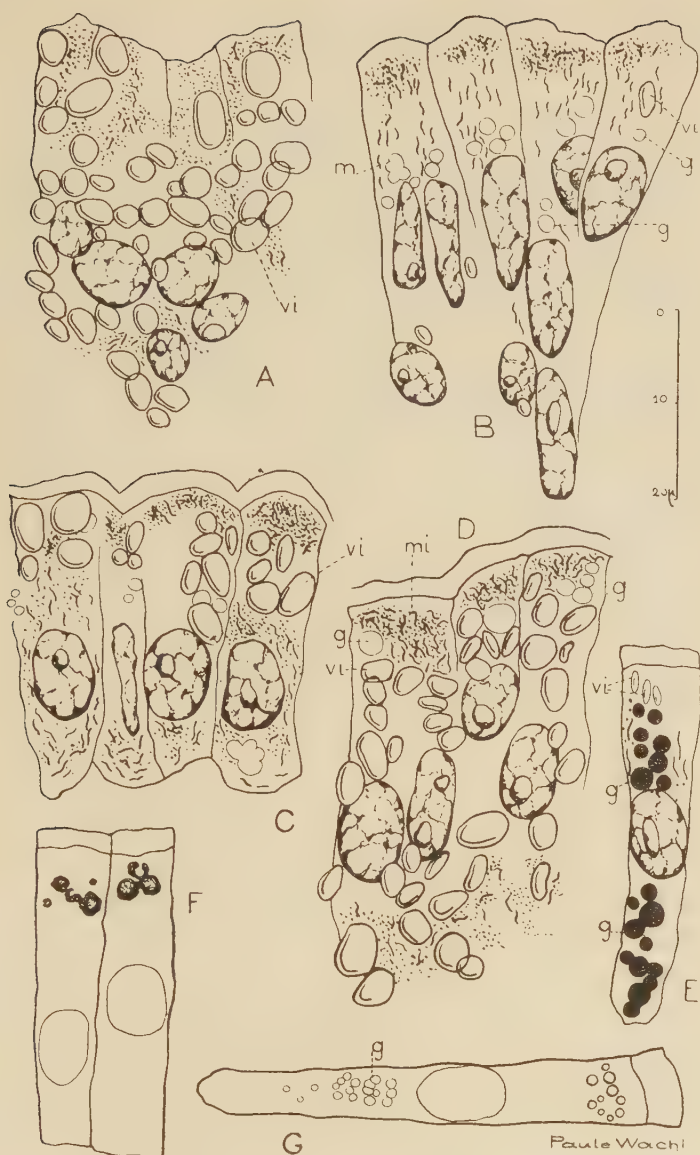


FIG. 12. — Cellules intestinales. *A-D*, Dietrich-Parat, Volkonsky. *A*) Stade 11. Digestion du vitellus, *Vi*. *B*) Stade 14. Cellule de la région antérieure de l'intestin. Vitellus, *Vi*, très réduit ; espace vide d'où sont parties les graisses, *G*. *C* et *D*) Stade 14. Cellules de la région postérieure de l'intestin. *E*) Stade 18. Mann, Altmann. Cellule pleine de graisse, *G* ; très peu de vitellus. *F*) Stade 20. Imprégnation à l'osmium des vacuoles, *Va*. *G*) Stade 20. Coloration vitale au rouge neutre des vacuoles, *Va*, en rouge ; les graisses, *G*, sont incolores.

III. — RÉSUMÉ

Jetons maintenant un coup d'œil en arrière en reprenant les points principaux de l'histoire, non des tissus, mais des constituants ou enclaves cellulaires. Le vitellus, d'abord déshydraté, est peu à peu hydrolysé et graduellement digéré ; pendant cette période, il est colorable vitalement par le rouge neutre. Durant le processus de digestion, des constituants gras se séparent du vitellus. Les graisses et les lipoides, soit présents depuis le début, soit formés aux dépens du vitellus, sont distribués dans tous les tissus mais peu à peu les quittent pour être brûlés ou bien emmagasinés dans le foie. Le glycogène, après avoir été présent dans tous les tissus, devient surtout très net dans l'épithélium. Plus tard, il diminue partout et ensuite s'accumule dans les muscles et le foie. Au stade où nous nous sommes arrêtés, le glycogène se trouve exclusivement localisé dans le foie, les muscles et les bâtonnets de la rétine. Ceci s'accorde bien avec la répartition observée chez la grenouille par KONOPACKI et KONOPACKA. Les mitochondries, d'abord granuleuses entre les plaquettes vitellines, augmentent énormément, en même temps que le vitellus disparaît, bien qu'on ne puisse voir de transformation directe. Ces corps se différencient en granules, en bâtonnets ou en filaments selon les tissus auxquels on s'adresse. Toutes les cellules, sauf peut être les hématies, gardent un groupe de vacuoles qui sont colorables au rouge neutre et imprégnables à l'osmium et à l'argent (dictyosomes, appareil de Golgi). Les méthodes de MACCALLUM et de CRETIN pour le phosphore ne nous ont pas donné de résultats significatifs. C'est-à-dire que partout dans les noyaux, les réactions ont été positives mais sans variations entre les différents stades. Sur les autres constituants cellulaires les réactions ont été trop diffuses pour pouvoir en tirer des conclusions.

Un point très important que nous n'avons pas considéré dans la discussion portant sur les tissus envisagés séparément mais que nous avons conservé pour ces considérations

générales, c'est la question de l'acide nucléinique. Nous avons vu dans l'ovaire, par la réaction nucléale de Feulgen, que les noyaux d'abord positifs, abandonnent peu à peu la substance donnant la réaction, mais qu'en même temps cette réaction apparaît dans le cytoplasme. Dans l'œuf mûr, il y a toujours une légère réaction indiquant la présence d'un aldéhyde (précurseur de l'acide thyminique ?) sur le vitellus. Au cours du développement, la même coloration des plaquettes vitellines est visible mais le cytoplasme après la digestion du vitellus ne donne plus aucune réaction. Les noyaux des œufs mûrs n'ont pas présenté de réaction, mais pendant les premières segmentations, les chromosomes apparaissent fortement colorés. A partir du stade II, les noyaux au repos donnent toujours la réaction, mais les petits noyaux du têtard la donnent d'une façon beaucoup plus intense que les grands noyaux du stade II. Quelle signification peut-on accorder à ces faits ? Il y a une augmentation énorme du matériel nucléaire total dans le têtard en comparaison avec celui de l'œuf. D'où vient donc ce matériel ?

LE BRETON et SCHAEFFER (1923) ont indiqué les diverses opinions émises à ce sujet ; celle de LOEB, admettant qu'il y a une synthèse par le noyau, des nucléines provenant de composés simples existant dans le cytoplasme, et la théorie opposée, c'est à dire une simple migration des nucléines cytoplasmiques préexistantes, dans le noyau. Puisque dans l'œuf mûr la réaction nucléale est aussi bien positive dans le cytoplasme avant ou après hydrolyse, et puisque pendant le développement l'hydrolyse décèle d'une façon de plus en plus intense, la présence d'acide thyminique dans les noyaux, nous nous croyons autorisée à nous ranger à côté de ceux qui admettent une synthèse de cette substance. Il est probable, d'après nos résultats, que le vitellus fournit les éléments de cette synthèse.

Ainsi nous arrivons au moment du développement où le vitellus est épuisé, à quelques traces près. C'est donc la fin du problème que nous nous sommes proposé de résoudre,

problème qui nous a permis de réunir ces diverses observations sous un même titre. A partir de ce moment, il n'y a presque plus de changements jusqu'à la métamorphose, processus qui fournira l'objet d'un travail ultérieur.

Conclusions

Dans l'espèce étudiée, *Discoglossus pictus* Otth :

1. Le vitellus naît dans l'œuf aux dépens des éléments du *vacuome*, par condensation et déshydratation de leur contenu. Ces éléments, colorables par le rouge neutre et décolorables par les imprégnations métalliques, correspondent aux dictyosomes de l'appareil de Golgi. Ils disparaissent dans l'œuf mûr.

2. Le vitellus, envacuolé au début, est essentiellement protéique ; d'autre part, il paraît accumuler certaines substances d'origine nucléaire (cf. plus bas, paragraphe 11). Arrivé au terme de sa condensation et de sa déshydratation, il s'imprègne de lipoïdes, issus du cytoplasme fondamental. Il s'agit donc, selon la terminologie de GATENBY adoptée par PARAT, d'un vitellus G (golgien) + C (cytoplasmique) + N (nucléaire).

3. Les graisses et le glycogène naissent au sein du cytoplasme homogène, sans intervention directe d'aucun constituant cytoplasmique.

4. L'œuf mûr est entouré d'un système de membranes dont l'origine et la disposition très spéciales sont décrites dans le texte.

5. Il n'est pas possible de mettre en évidence une substance dérivée de l'œuf et agissant à distance sur le spermatozoïde. Dans l'attraction du spermatozoïde par l'œuf, interviennent des phénomènes électrostatiques : l'œuf présente une *charge positive* et le spermatozoïde une *charge négative*.

6. Une action digestive du spermatozoïde sur les membranes de l'œuf a été mise en évidence ; il est probable que le ferment est contenu dans l'*acrosome*.

7. Au cours du développement, le vitellus subit une hydratation prononcée qui scinde son complexe en substances aqueuses essentiellement protéiques et, en substances grasses, ces dernières pouvant résulter d'un *véritable processus synthétique*.

8. Les substances protéiques sont utilisées, éliminées, ou subsistent dans la cellule, à son état ultime de différenciation sous forme d'une véritable « *phase aqueuse dispersée* » (vacuome, appareil de Golgi).

9. Les substances grasses sont d'abord distribuées dans tous les tissus ; elles sont en partie utilisées sur place et en partie emmagasinées ultérieurement dans le foie.

10. Le glycogène, distribué au début dans tous les tissus est finalement localisé dans le foie, les muscles et la rétine.

11. Une substance plus simple que l'acide thyminique, dérivant vraisemblablement de matériaux issus du noyau, et accumulée sur les plaquettes vitellines, paraît être utilisée pour la synthèse des nucléines embryonnaires.

BIBLIOGRAPHIE

- AVEL, M. 1923. — Sur l'évolution du chondriome au cours des premiers stades de la vitellogenèse chez la Grenouille rousse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 89, p. 1319.
- BACHMAN und RUNNSRÖM 1912. — Der osmotische Druck während der Embryonalentwicklung von *Rana temporaria*. *Arch. f. Gesamte Physiologie* (Pflüger), Bd. 144, S. 287.
- BELLAMY, A. W. 1919. — Differential susceptibility as a basis for modification and control of early development in the frog. *Biol. Bull.*, v. 37, p. 312.
- BHATTACHARYA, D. R. 1925. — Les inclusions cytoplasmiques dans l'ovogenèse de certains reptiles. *Thèse de Paris*. Vigné, Editeur.
- BIALASZEWICZ, K. 1908. — Beiträge zur Kenntnis des Wachstumsvorgänge bei Amphibien Embryonen. *Bull. de l'Acad. des Sci.*, Cracovie.
- ID. 1912. — Untersuchungen über die osmotischen Verhältnisse bei der Entwicklung der Hühnerei und froschembryonen. *Ibid.*
- BIALASZEWICZ et MINC. 1921. — Sur le métabolisme des principes gras et azotés dans les premiers stades du développement de la Grenouille. *Soc. Varsovie Trav. Lab. Phys. Inst. Nencki*, v. 1, n° 1, p. 1.
- BOWEN, R. H. 1926a. — The Golgi apparatus, its structure and functional significance. *Anat. Rec.*, v. 32, p. 151.
- ID. 1926b. — Notes on the form and function of the Golgi apparatus in striated muscle. *Biol. Bull.*
- ID. 1927. — Golgi apparatus and vacuome. *Anat. Rec.*, v. 35, p. 309.
- BRAMBELL, F. W. R. 1924. — The nature and origin of yolk. *Brit. Journ. Exp. Biol.*, v. 1, p. 501.
- CAJAL, R. 1915. — Algunas variaciones fisiológicas y pathológicas del aparato reticular de Golgi. *Trab. d. lab. de invest. biol.*, Univ. Madrid, v. 12, p. 129.
- CANTACUZÈNE et VLÈS. 1923. — L'intervention des charges électriques dans les réactions des éléments du sang chez le Sipuncle. *Arch. de Phys. Biol.*, v. 3, p. 5.
- CARNOY et LE BRUN. 1900. — La vésicule germinative et les globules polaires chez les anoures. *La Cellule*, t. 17, p. 203.
- CATTANEO, D. 1914. — Ricerche sulla struttura dell'ovario dei Mammiferi. *Arch. Ital. Anat. e Emb.*, v. 12.
- CHAMPY, Ch. 1923. — La Spermatogenèse chez *Discoglossus pictus* (Oth.). *Arch. de Zool. Exp.*, t. 62, p. 1.
- CHAMPY et GLEY. 1923. — Observations cytologiques sur les ovocytes des Poissons et de quelques autres vertébrés. *Arch. d'Anat. Micr.*, t. 9, p. 241.

- COGHILL, G. E. 1915. — Preliminary studies on intracellular digestion and assimilation in Amphibian embryos. *Science*, v. 42, p. 347.
- COWDRY, E. V., Editeur 1924. — General Cytology. *Univ. of Chicago Press*.
- DALCQ, A. 1926. — L'activation de la cellule œuf. *Revue de l'Université de Bruxelles*, n° 3-4.
- ID. 1928. — Les Bases physiologiques de la Fécondation et de la Parthenogenèse. Paris. Presses Universitaires.
- DAVENPORT, 1897. — The Role of Water in Growth. *Proc. Boston Soc. Nat. Hist.*, v. 28, p. 73.
- DUESBERG, J. 1910. — Les chondriosomes des cellules embryonnaires de poulet et leur rôle dans la genèse des myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées. *Arch. f. Zellforschung*, Bd. 4.
- FAURÉ-FRÉMIET, E. 1911. — Sur la valeur des indications microchimiques fournies par quelques colorants vitaux. *Anat. Anz.*, Bd. 40, S. 378.
- ID. 1925. — La cinétique du Développement. Paris, Presses Universitaires.
- FAURÉ-FRÉMIET et DRAGOIU. 1923. — Le premier cycle de croissance du têtard de *Rana temporaria*. *Arch. Internationale de Physiologie*, t. 21.
- FAURÉ-FRÉMIET et NICHITA. 1927. — Charge électrique et agglutination chez les amibocytes d'invertébrés marins. *Annales de Physiol. et de Physicochimie Biologique*, p. 247.
- FAURÉ-FRÉMIET et DU VIVIER DE STREEL. 1921. — Les constituants chimiques de l'œuf et leur rôle dans le développement embryonnaire chez la Grenouille rousse. *Bull. de la Soc. de Chim. Biol.*, t. 3, p. 480.
- GAJEWSKA, H. 1915. — Über die morphologischen Veränderungen der Kern-und-Plasmasubstanzen im Verlaufe des Wachstums der Oocyten. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 14, S. 464.
- GARDNER, M. S. 1927. — Oogenesis in *Limulus polyphemus* with special reference to the behavior of the nucleolus. *Jour. Morph. and Physiol.*, v. 44, p. 217.
- GATENBY, J. B. 1919. — Cytoplasmic inclusions of germ cells. Part. V. *Q. J. M. S.*, v. 63, p. 445.
- ID. 1921. — The germ cells, fertilization, and early development of *Grantia compressa*. *Journ. Linnean Soc.*, v. 61, p. 261.
- ID. 1922. — Cytoplasmic inclusions of germ cells, Part. X. *Q. J. M. S.*, v. 66, p. 1.
- GATENBY and WOODGER. 1920. — On the relationship between the formation of yolk and the Golgi apparatus. *Jour. Roy. Mic. Soc.*, p. 129.

- GAUDISSERT, P. 1913. — Réseau protoplasmique et chondriosomes dans la genèse des myofibrilles. *La Cellule*, t. 30, p. 29.
- GRAEPER, L. 1911. — Beobachtung von Wachstumsvorgängen nebst Bemerkung zur Vitalen Färbung. *Arch. f. Entwicklungs Mech.*, Bd. 33, S. 313.
- GUILLIERMOND, A. 1927. — Recherches sur l'appareil de Golgi et ses relations avec le vacuome. *Arch. d'Anat. Micr.*, t. 23, p. 1.
- GUTHRIE, M. J. 1925a. — Cytoplasmic inclusions in cross activated eggs of Teleosts. *Zeit. f. Zellforsch. und mikr. Anat.*, Bd. 2, S. 347.
- ID. 1925b. — Storage of food in the eggs of Fundulus. *Anat. Rec.*, v. 31, p. 306.
- GUTHRIE and ROBERTSON. 1925. — Storage of food in the eggs of reptiles. *Ibid.*
- HAGGQVIST, G. 1920. — Über die Entwicklung des quergestreiften Myofibrillen beim frosche. *Anat. Anz.*, Bd. 52, S. 389.
- HARVEY, L. A. 1925. — On the relation of mitochondria and Golgi apparatus to yolk formation in the eggs off the common earthworm, Lumbricus terrestris. *Q. J. M. S.*, v. 69, p. 292.
- HIBBARD, H. 1922. — Cytoplasmic inclusions in the egg of Echinarchnius parma. *Jour. Morph.*, v. 36, p. 467.
- ID. 1927. — Rôle des constituants cytoplasmiques dans la vitellogenèse d'un Amphibien, Discoglossus pictus. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 97, p. 45.
- ID. 1928. — Cytoplasmic constituents in the developing egg of Discoglossus pictus. *Jour. Morph. and. Physiol.*, v. 45, p. 233.
- HIBBARD and PARAT. 1927. — Oogenesis in certain Teleosts, with special reference to the chondriome, vacuome, and yolk formation. *Jour. of Anat.*, v. 61, p. 494.
- HIBBARD et WINTREBERT. 1928. — La formation des membranes et les changements d'aspect de l'œuf de Discoglossus pictus avant la ponte. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 98.
- HIRSCHLER, J. 1916. — Über die Plasmakomponenten der weiblichen Geschlechtszellen. *Arch. f. Mik. Anat.*, Bd. 89, S. 1.
- HOSSELET, C. — Communication verbale.
- HUSAIN, M. T. 1927. — Yolk formation in some Arthropods. *Nature*, v. 119, p. 817.
- HUXLEY, J. 1924. — Early embryonic differentiation. *Nature*, v. 113, p. 276.
- KING, S. D. 1924. — Oogenesis of Lithobius. *Proc. Roy. Dublin Soc.*
- ID. 1926. — Oogenesis in Oniscus asellus. *Proc. Roy. Soc.*, B. v. 100, p. 1.
- KONOPACKI, M. 1924. — Analyse microchimique de la substance perivitelline dans les œufs de la Grenouille. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 90, p. 593.

- ID. 1927. — Sur le comportement des mitochondries au cours du développement de la Grenouille. *Bull. d'Hist. Appliquée*, t. 4, p. 40.
- KONOPACKI et KONOPACKA. 1926. — Micromorphologie du métabolisme dans les périodes initiales du développement de la Grenouille. *Bull. International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres*. N° 3-4B, p. 229.
- LAMS, M. H. 1906. — Contribution à l'étude de la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens. *Arch. d'Anat. micr.*, t. 9, p. 589.
- LE BRETON et SCHAEFFER. 1923. — Variations biochimiques du rapport nucleoplasmatique au cours du développement embryonnaire. *Trav. Inst. Phys.*, Strasbourg, Masson, Editeur.
- LE BRUN. 1902. — Les cineses sexuelles. Les globules polaires chez les Anoures. *La Cellule*, t. 19, p. 315.
- LEVI, G. 1912. — I condriosome nell' oocyte degli Anfibi. *Monitare Zool. Ital.*, v. 23, p. 149.
- ID. 1924. — Caractères morphologiques spécifiques et propriétés biologiques de différents tissus dans les cultures in vitro. *Comptes rendus de l'Association des Anatomistes*, Strasbourg, p. 204.
- LILLIE, F. R. 1923. — Problems of Fertilization. *Univ. of Chicago Press*.
- LOYEZ, M. 1905. — Recherches sur le développement ovarien des œufs méroblastiques à vitellus abondant. *Arch. d'Anat. micr.*, t. 8, p. 239.
- LUDFORD, R. J. 1921. — Contributions to the study of the oogenesis of Patella. *Jour. Roy. Micr. Soc.*, p. 1.
- ID. 1924. — Experiments on the impregnation of the Golgi apparatus by means of osmium tetroxide. *Jour. Roy. Micr. Soc.*, p. 269.
- LUNA, E. 1913. — Sulla importanza di condriosomi nella genesi delle miofibrille. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 9, S. 458.
- MCCLENDON, J. F. 1909. — On the nucleo-albumen in the yolk platelets in the frog's egg with a note on the black pigment. *Am. Jour. Physiol.*, v. 25, p. 195.
- ID. 1915. — On the formation of fats from proteins in the eggs of fish and Amphibia. *Jour. Biol. Chem.*, vol. 21, p. 269.
- MEVES, Fr. 1909. — Ueber Neubildung quergestreifter Muskelfasern nach Beobachtungen am Hühnerembryo. *Anat. Anz.*, Bd. 34, S. 161.
- MICHAELIS, L. 1923. — Manuel de Techniques de Physico-chimie. Traduction. Masson et C^{te}, éditeurs.
- MILLOT et GIBERTON. 1927. — Sur l'utilisation, en Histologie, des pièces conservées dans le formol, pour la mise en évidence des graisses. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 97, p. 1674.

- MILOVIDOV, P. V. 1928. — Sur la question de la double coloration des Bactéries et des chondriosomes. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 98, p. 555.
- VON MÖLLENDORFF, 1918. — Zur morphologie der vitalen Granulafärbung. *Arch. f. Mikr. Anat.*, Bd. 90, p. 463.
- ID. 1920. — Vitale Färbungen an Tierischen Zellen. *Ergebnisse der Physiologie*, Bd. 18, S. 141.
- MURRAY, M. R. 1926. — Secretion in the amitotic cells of the cricket egg follicle. *Biol. Bull.*, v. 50, p. 210.
- NATH, V. 1924. — Ogenesis of *Lithobius forficula*. *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, v. 1.
- ID. 1925. — Cell inclusions in the oogenesis of scorpions. *Proc. Roy. Soc.*, B, v. 98, p. 44.
- NAVILLE, A. 1920. — L'origine des mitochondries chez les embryons des Batraciens. *C. R. Soc. de Phys. et d'Hist. nat. de Genève*, t. 37, p. 21.
- ID. 1922. — Histogenèse et régénération du muscle chez les Anoures. *Arch. de Biol.*, t. 32, p. 37.
- NEEDHAM, B. 1925. — The metabolism of the developing egg. *Physiol. Reviews*, 11, p. 1.
- ID. 1927a. — The carbohydrate metabolism in Amphibian embryogenesis. *Q. J. Exp. Physiol.*, v. 18, p. 153.
- ID. 1927b. — Le métabolisme des hydrates de carbone chez l'embryon de Grenouille. *C. R. de la Soc. de Bio.*, t. 97, p. 99.
- NOËL, R. 1922. — Recherches histo-physiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. *Thèse de Paris*, Masson et Cie, éditeurs.
- OLIVO, O. 1925. — Sull'inizio della funzione contrattile del cuore e dei miotomi dell'embrione di pollo in rapporto alla loro differenziazione morfologica e strutturale. *Arch. f. Exp. Zellforsch.* Bd. 1.
- PARAT, Marguerite. 1927. — Le vacuome (appareil de Golgi) au cours de l'ovogenèse et du développement de l'Oursin, *Paracentrotus lividus* Lk. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 96, p. 1360.
- PARAT, Marguerite et PARAT, Maurice. 1927. — Vacuome et inversion des phases cytoplasmiques dans l'œuf d'Oursin activé. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 96, p. 1363.
- PARAT et PAINLEVÉ. 1924a. — Constitution du cytoplasme d'une cellule glandulaire : la cellule des glandes salivaires de la larve du Chironome. *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 543.
- ID. 1924b. — Appareil réticulaire interne de Golgi, trophosponge de Holmgren et vacuome. *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 844.
- ID. 1925a. — Rôle du vacuome (appareil de Golgi) et du chondriome dans la formation des grains de sécrétion. *C. R. Soc. Biol.*, t. 92, p. 65.

- ID. 1925*b*. — Observations vitales sur les « centrophormies » et certains « centralkapseln ». Polarisation du vacuome et du chondriome. *C. R. Soc. Biol.*, t. 92, p. 250.
- ID. 1925*c*. — Mise en évidence du vacuome (appareil réticulaire de Golgi) et du chondriome par les colorations vitales. *Bull. d'Hist. appliquée*, t. 2, p. 1.
- ID. 1925*d*. — Sur l'exacte concordance des caractères du vacuome et de l'appareil de Golgi classique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 180, p. 1134.
- ID. 1925*e*. — Techniques relatives à la démonstration du vacuome et sa comparaison avec l'appareil de Golgi. *C. R. Soc. Biol.*, t. 93, p. 315.
- ID. 1926. — L'appareil de Golgi des cellules génitales mâles d'*Helix* et des autres Pulmonés. *C. R. Soc. Biol.*, t. 94, p. 745.
- PARAT, Maurice. 1925. — Vacuome et appareil de Golgi. *Compte Rendus de l'Association des Anatomistes*, Turin, p. 306.
- ID. 1926*a*. — Sur la constitution de l'appareil de Golgi et de l'idiozome, vrais et faux dictyosomes. *C. R. Ac. Sc.*, t. 182, p. 808.
- ID. 1926*b*. — Vacuome et appareil de Golgi. *C. R. Association des Anatomistes*, Liège, p. 609.
- ID. 1926*c*. — Mise en évidence du chondriome et des lipoïdes cellulaires. *Bull. d'Hist. app.*, t. 3, p. 1.
- ID. 1927*a*. — Evolution du vacuome au cours de l'ovogenèse et de l'ontogenèse ; son importance physiologique chez l'adulte. *C. R. Ass. des Anatomistes*, Londres, p. 197.
- ID. 1927*b*. — A review of recent developments in histochemistry. *Biol. Reviews*, v. 2, p. 285.
- ID. 1928. — Contributions à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. *Arch. d'Anal. microscopique* (sous presses).
- PARAT et BHATTACHARYA. 1926. — Les constituants cytoplasmiques de la cellule génitale femelle, L'ovocyte de *Ciona intestinalis* L. *C. R. Soc. Biol.*, t. 94, p. 444.
- PARAT et BOURDIN. 1925. — Observations cytologiques sur l'épiderme d'embryons et d'alevins de Truite : vacuome et appareil de Golgi. *C. R. Soc. Biol.*, t. 93, p. 317.
- PARAT et CAMBIER. 1926. — L'appareil de Golgi des cellules génitales mâles du Discoglosse et du Cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. 94, p. 748.
- PARAT et HIBBARD. 1928. — L'origine et la nature de l'appareil de Golgi du muscle d'Amphibien. *C. R. Soc. Biol.*, (en préparation).
- PARNAS, J. K. 1921. — Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frosche. *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 91, S. 1.
- PARNAS und KRASINSKA. 1921. — Über den Stoffwechsel der Amphibienlarven. *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 91, S. 108.

- PRENANT, A. 1911. — Problèmes cytologiques généraux soulevés par l'étude des cellules musculaires. *Jour. de l'Anat. et de la Physiologie*, p. 449.
- RAU and BRAMBELL. 1925. — Staining methods for the demonstration of the Golgi apparatus in fresh vertebrate and invertebrate material. *Jour. Roy. Mic. Soc.*, p. 438.
- SCHAPER. 1902. — Beiträge zur Analyse des Tierischen Wachstums. *Arch. f. Entwick. Mech.*, Bd. 14, p. 307.
- SJOVALL, E. 1906. — Ein Versuch, das Binnennetz von Golgi-Kopsch bei des Spermato- und Ovogenèse zu homologisieren. *Anat. Anz.*, Bd. 28, S. 561.
- STEOPOE, I. 1926. — L'appareil de Golgi dans la vitellogenèse chez la *Nepa cinerea*. *C. R. Soc. Biol.*, t. 95, p. 142.
- STUDNIČKA, F. K. 1903. — Schematische Darstellung zur Entwicklungsgeschichte einiger Gewebe. *Anat. Anz.*, Bd. 22, S. 537.
- VAN DER STRICHT, O. 1905. — La structure de l'œuf des Mammifères. *Arch. de Biol.*, t. 21, p. 1.
- VERNE, J. 1927. — La détection histochimique des nucléines. *Bull. d'Hist. appliquée*, t. 4, p. 110.
- VLÈS, F. 1924. — Recherches sur les propriétés physico-chimiques des produits sexuels de l'Oursin. *Arch. Phys. Biol.*, t. 3, p. 42.
- VOLKONSKY, M. — Technique de coloration. *Bull. d'Hist. appliquée*. In preparation (voir aussi MILOVIDOV).
- WALTON, A. 1924. — Flocculation of sperm suspensions in relation to surface charge. *Brit. Jour. Exp. Biol.*, v. 2, p. 13.
- WHEELER, J. F. G. 1924. — The growth of the egg in the Dab. *Q. J. M. S.*, v. 68, p. 272.
- WEINER, P. 1925 a. — Der Golgische Apparat bei der Ovogenèse. *Zeit. f. mikr. anat. Forschung*, Bd. 4, S. 149.
- Id. 1925 b. — Contributions à l'étude des noyaux vitellins. *Arch. russes d'Anat., d'Hist. et d'Emb.*, t. 4, p. 153.
- WINTREBERT, P. 1928. — Les changements de forme des membranes et de l'œuf de *Discoglossus pictus* après la ponte. *C. R. Soc. Biol.*, t. 98.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE X

- FIG. 1. — Stade 10
 FIG. 2. — Stade 11
 FIG. 3. — Stade 12
 FIG. 4. — Stade 13
 FIG. 5. — Stade 14
 FIG. 6. — Stade 19
- } Têtards à moitié disséqués pour montrer l'évolution du tube digestif.

FIG. 7. — Dietrich-Parat, Volkonsky. Coupe de l'oviducte, *O*, contenant un œuf qui montre, rétractées par la fixation, trois parties du bouchon : sécrétion tubaire, *T* ; chorion folliculaire, *F* ; et sécrétion de la vésicule germinative, *S*. Zone nucléaire en soucoupe, *N* ; *zona radiata* visible au fond de la cupule.

FIG. 8. — Œuf ovarien de diamètre 1 millimètre. Alcool absolu, gomme iodée. Autour du noyau, auréole de glycogène, ce qui se trouve également en petits grains partout entre les plaquettes vitellines. Masse de lipoides et mitochondries, *L*, incolore.

FIG. 9. — Œuf ovarien, même taille. Dietrich-Parat, Volkonsky. Zone du glycogène se trouve incolore, *Gl* ; lipoides, *L*, rouge intense.

MUSCLES STRIÉS

FIG. 10. — Stade 6. Dietrich-Parat, Volkonsky. Mitochondries granuleuses, *Mi* ; lacunes laissées par le départ des graisses, *G* ; vitellus, *Vi* ; premier alignement des mitochondries pour former une fibrille, *F*.

FIG. 11. — Stade 10. Dietrich-Parat, Volkonsky. Moins de vitellus, *V* ; formation des fibrilles, *F* ; et fibrilles bien différenciées, *F*¹.

FIG. 12. — Stade 13. Vitellus, *V*, réduit ; formation continue de fibrilles.

FIG. 13. — Stade 16. Dietrich-Parat, Volkonsky. Vitellus absent, sarcoplasme contient des mitochondries devenues filamenteuses, *Mi*, qui continuent à se mettre en lignes, *F*, pour former des fibrilles *F*¹.

FIG. 14. — Stade 17. Coloration vitale montrant des vacuoles, *Va*, (rouge), polarisées.

FIG. 15. — Stade 17. Coloration vitale. Couche de sarcoplasme au travers de laquelle on aperçoit les fibrilles. Dans le sarcoplasme, des vacuoles, *Va*, éparpillées ; et des mitochondries, *Mi*, en bâtonnets.

FIG. 16. — Stade 17. Deux endroits imprégnés à l'argent (Da Fano). Le contenu du vacuome, *Va*, est rétracté et imprégné et séparé du cytoplasme par un espace vide. Pigment, *P*.

FIG. 17. — Alcool, gomme iodée. Sarcoplasme, à côté des fibrilles, contient des plages de glycogène, *Gl*.

PLANCHE XI

CHORDE DORSALE (Dietrich-Parat, Altmann-Kull)

FIG. 18. — Stade 6. Vitellus, *Vi*.

FIG. 19. — Stade 8. Apparition dans le cytoplasme, des vacuoles, *Va*.

FIG. 20. — Stade 10. Accroissement des vacuoles comprimant le cytoplasme en travées étroites.

FIG. 21. — Stade 11. Moins de vitellus. La majeure partie du cytoplasme et des noyaux sont repoussés vers la surface de la chorde.

FIG. 22. — Stade 18. Vitellus résorbé, tout le cytoplasme se trouve à la surface, *S*. Noyaux entourés des mitochondries granuleuses, *Mi*.

FIG. 23. — Stade 18. Coloration vitale ; un noyau est visible à la surface de la chorde, *S*, avec le cytoplasme qui l'englobe. Vacuoles secondaires, *Va*¹, colorées en rouge, polarisées à un pôle du noyau.

Figures 24 à 28, FOIE

FIG. 24. — Stade 13. Coloration vitale au rouge neutre. Cellules du foie bourrées de vitellus, *V*, coloré au rouge. Quelques gouttelettes de graisse incolores, *G*.

FIG. 25. — Stade 14. Mann, Altmann. Vitellus, *V*, réduit ; graisse *G*.

FIG. 26. — Stade 20. Mann, Altmann. Vitellus disparu ; graisse présente en grande quantité.

FIG. 27. — Stade 20. Dietrich-Parat, Volkonsky. Mitochondries, *Mi*, dans les travées cytoplasmiques qui séparent les lacunes, *G*, d'où les graisses sont parties.

FIG. 28. — Stade 20. Alcool, gomme iodée. Grosses lacunes laissées par le départ des graisses au moment de la fixation. Cytoplasme d'un aspect alvéolaire, complètement imbibé de glycogène.

Figures 29 à 36, CELLULES ÉPIDERMQUES

FIG. 29. — Stade 6. Coloration vitale. Vitellus incolore, *Vi*¹ ; vitellus montrant une coloration au rouge neutre légère et diffuse, *Vi*² ; vitellus ayant perdu sa coloration diffuse, et montrant des croissants rouges-plus foncés à la surface, *Vi*³. Quelques gouttelettes rouges, *Va*, séparées des plaquettes, se trouvent entre celles-ci.

FIG. 30. — Stade 8. Coloration vitale au rouge neutre. Tout le vitellus coloré en rouge, *Vi* ; vacuoles superficielles en rouge, *Va*, dans la couche muqueuse, *Mu*.

FIG. 31. — Stade 8. Coloration vitale semblable à celle de la fig. 7, après absorption d'eau formant une hernie anormale, *A*, dans laquelle se trouvent des vacuoles, *Va*.

FIG. 32. — Stade 8. Coloration vitale vue de surface. Vacuoles, *Va*, fluides et complètement colorées. Le vitellus dans la partie profonde de la cellule n'est pas indiqué.

FIG. 33. — Stade 15. Coloration vitale. Vitellus résorbé ; graisse, *G* ; les vacuoles superficielles condensées, *Va*, restent incolores au centre, tandis que le rouge neutre se trouve en anneaux ou en croissants autour des grains.

FIG. 34. — Stade 10. Imprégnation à l'argent (Da Fano). Vacuoles superficielles, *Va*, imprégnées en noir ; d'autres petites vacuoles, *Va*¹, se forment parmi les plaquettes vitellines. La couche du mucus, *Mu*, ne s'imprègne pas, et, dans cette cellule, ne contient pas de vacuole.

FIG. 35. — Stade 10. Imprégnation à l'argent (Da Fano). Vacuoles, *Va*, pénètrent dans la couche muqueuse.

FIG. 36. — Stade 20. Da Fano. Coupe tangentielle pour comparer avec la figure 33 et avec la figure 7*b* du texte. Dépôt d'argent à la surface des grains, mais le centre des grains et les vacuoles ne sont pas imprégnées ; *p* = pigment.

DEUXIÈME THÈSE



PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ



GÉOLOGIE : LES TRILOBITES.

BOTANIQUE : L'APPAREIL DE GOLGI DANS LA CELLULE
VÉGÉTALE.



VU ET APPROUVÉ :

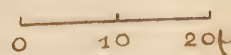
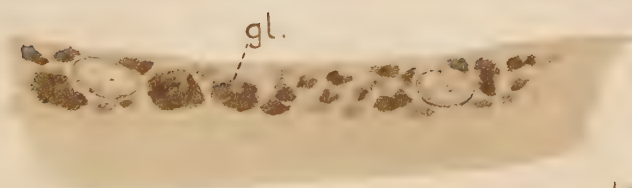
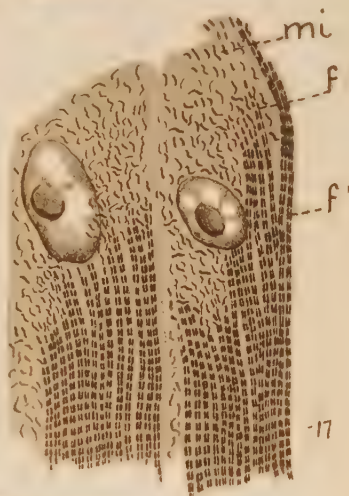
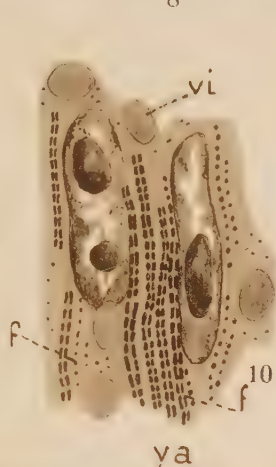
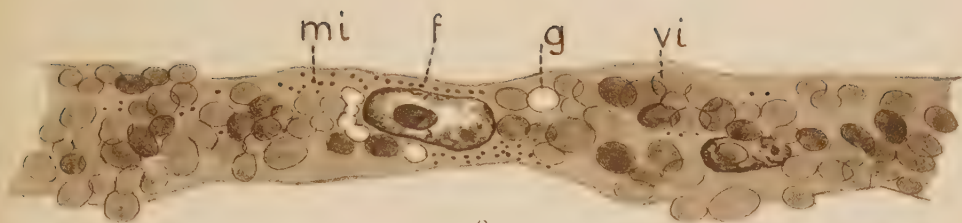
Paris, le 2 mai 1928.

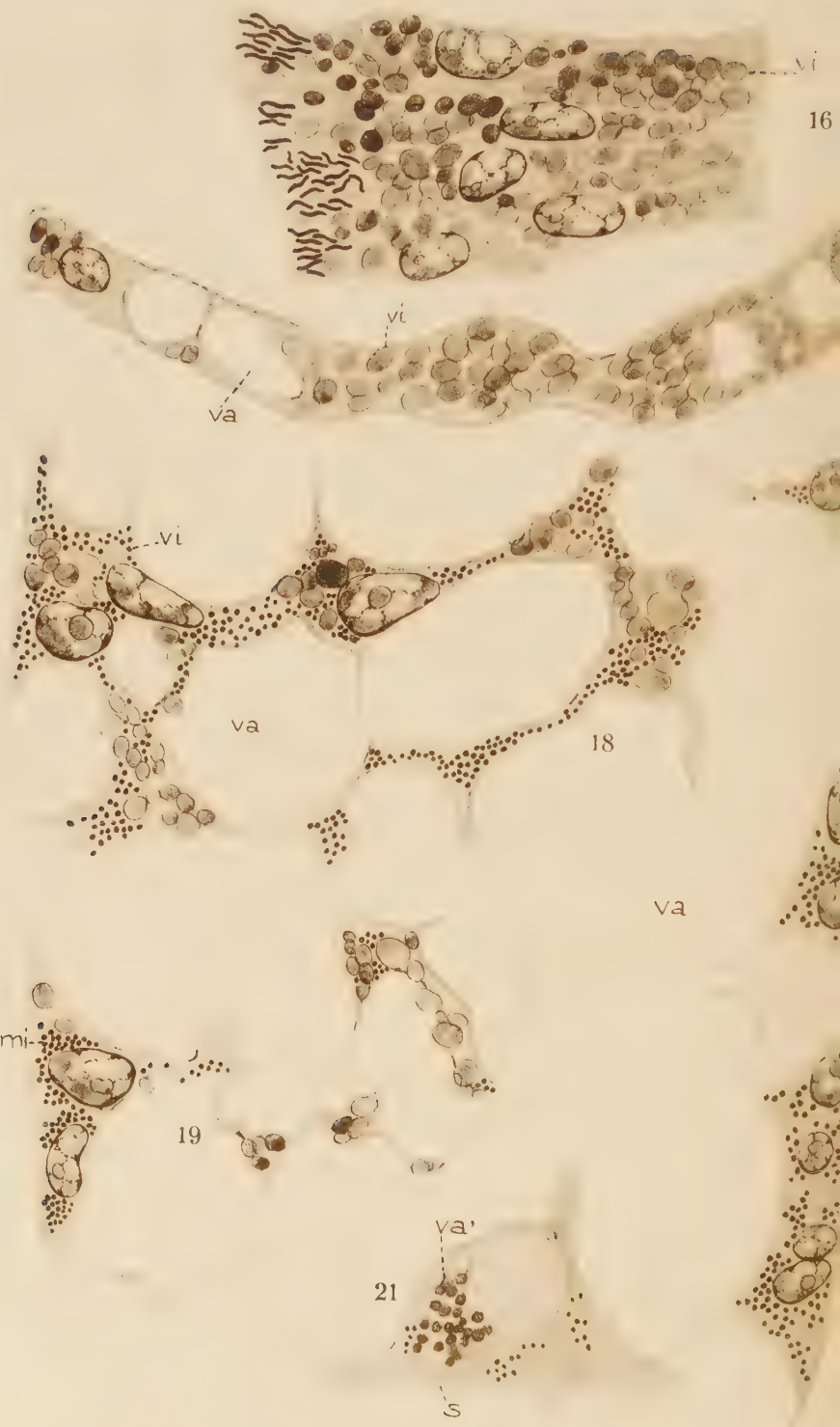
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
C. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.











1354